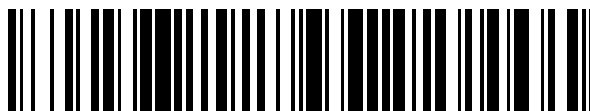


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 441 955**

51 Int. Cl.:

A61K 31/435 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.01.2007 E 07762831 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 1976529**

54 Título: **Combinaciones de inhibidores de ANG2 y VEGF**

30 Prioridad:

27.01.2006 US 762493 P

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

07.02.2014

73 Titular/es:

**AMGEN INC. (100.0%)
ONE AMGEN CENTER DRIVE M/S 28-2-C
THOUSAND OAKS CA 91320-1799, US**

72 Inventor/es:

**OLINER, JONATHAN;
KENDALL, RICHARD y
KUMAR, RAKESH**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 441 955 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 de inhibidores de ANG2 y VEGF

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos Núm. 60/762.493 presentada el 27 de Enero de 2006 que se incorpora explícitamente como referencia a la presente memoria.

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a combinaciones de inhibidores de Ang2 e inhibidores de VEGF y a su uso en la formulación de composiciones farmacéuticas y en el tratamiento de enfermedades, entre otras cosas.

Antecedentes de la invención

10 Se sabe que ciertas enfermedades están asociadas con una angiogénesis desregulada, por ejemplo neovascularización ocular, tal como retinopatías (incluyendo la retinopatía diabética), degeneración macular relacionada con la edad, psoriasis, hemangioblastoma, hemangioma, arteriosclerosis, enfermedades inflamatorias, tales como la una enfermedad reumatoide o reumática, especialmente artritis (incluyendo artritis reumatoide), u otros trastornos inflamatorios crónicos, tales como asma crónica, aterosclerosis arterial o post-trasplante, endometriosis, y enfermedades neoplásicas, por ejemplo los denominados tumores sólidos y tumores líquidos (tales como leucemias).

15 Por ejemplo, la angiogénesis juega un papel crucial en el progreso del tumor. Los tumores nacientes y pequeños pueden obtener suficiente oxígeno y nutrientes para mantener su crecimiento mediante difusión simple. Sin embargo, por encima de un diámetro de 1 a 2 mm la difusión no puede proporcionar estos elementos en las cantidades requeridas para un crecimiento adicional. Para un crecimiento por enzima de este tamaño, todos los tumores requieren una vasculatura, cualquiera que sea su causa, origen, tipo, edad, o localización. De este modo, el crecimiento tumoral por encima de un diámetro de 1 a 2 mm requiere angiogénesis.

La angiogénesis, por lo tanto, se ha considerado una diana prometedora para el desarrollo de un tratamiento general eficaz para tumores.

25 Tres mecanismos principales desempeñan un papel importante en la actividad de los inhibidores de la angiogénesis contra tumores: (i) inhibición del crecimiento de los vasos, especialmente capilares, en tumores en reposo avasculares, con el resultado de que no existe un crecimiento tumoral neto debido al equilibrio que se logra entre la muerte y la proliferación celulares; (ii) prevención de la migración de células tumorales debido a la ausencia de flujo sanguíneo hacia y desde los tumores; y (iii) inhibición de la proliferación de células endoteliales, lo que evita el efecto paracrino estimulador del crecimiento ejercido sobre el tejido circundante sobre las células endoteliales que normalmente revisten los vasos. Véase R. Connell y J. Beebe, *Exp. Opin. Ther. Patents*, 11:77-114 (2001).

30 Los esfuerzos para desarrollar inhibidores terapéuticamente eficaces de la angiogénesis se han dirigido a estos tres mecanismos principales. Como resultado de estos esfuerzos, se ha identificado una variedad agentes anti-angiogénicos prometedoros. Si bien algunos de estos muestran efectos inhibidores notables, no se ha demostrado que ninguno de ellos sea un modo completamente satisfactorio de proporcionar una modalidad monoterapéutica para la mayor parte de los trastornos dependientes de la angiogénesis.

Los esfuerzos para obtener un perfil terapéutico más eficaz se han centrado en la identificación de nuevos cebadores, la modificación de inhibidores conocidos, la mejora de la formulación y administración, y la utilización de los inhibidores junto con otras modalidades terapéuticas. Hasta ahora, si bien se ha conseguido un cierto progreso, queda mucho por hacer.

40 Un enfoque para desarrollar una modalidad de tratamiento más eficaz ha consistido en combinar agentes que actúan sobre diferentes dianas, preferiblemente dianas que actúan sobre rutas bien aisladas. Se ha sugerido una variedad de combinaciones.

Puesto que se ha demostrado que la ruta de Tie2 es importante para la angiogénesis, ha habido algunas sugerencias para intentar combinar un inhibidor de la ruta de Tie2 con un inhibidor de la ruta de VEGF. Véanse Siemeister G., et al., *Cancer Research*, 59:3185-3191 (1999); Jendreyko, N., et al., *Journal of Biological Chemistry*, 278:47812-47819 (2003); Jendreyko, N., et al., *PNAS*, 102:8293-8298 (2005). Existe alguna evidencia de que las dos rutas actúan independientemente entre sí. Sin embargo, esto no significa que la combinación con un agente que actúa sobre una ruta con un agente que actúa sobre la otra ruta tenga un efecto aditivo. Por supuesto, es igualmente probable que a una dosificación óptima cualquiera de los agentes (utilizado solo) sea al menos tan eficaz que cuando se utiliza combinado. El documento EP 1586333 (Schering Aktiengesellschaft) hace referencia a composiciones de compuestos que interfieren en los sistemas de VEGF/receptor de VEGF y los sistemas de Angiopoyetina/receptores de Tie. El documento US 2003/0125339 (Chen et al) hace referencia a compuestos heterocíclicos para el tratamiento de enfermedades mediadas por angiogénesis. Herbst et al (2004) "151 AMG706 first in human, open label, dose finding study evaluating safety and pharmacokinetics (PK) in subjects with advanced solid tumours" *European Journal of Cancer, Supplement, Vol 2, Núm. 8*) comentan la seguridad y los niveles de

dosificación de AMG706 cuando se somete a ensayo en pacientes con tumores sólidos.

Los autores de las invenciones descritas en la presente memoria han examinado los perfiles terapéuticos de una variedad de combinaciones de agentes que actúan sobre la ruta de VEGF con agentes que actúan sobre la ruta de Tie2. Han encontrado que algunas combinaciones de un inhibidor de la ruta de VEGF y un inhibidor de la ruta de Ang2 tienen una utilidad concretamente acrecentada en el tratamiento de pacientes.

Compendio de la invención

Los siguientes párrafos numerados describen algunas realizaciones ilustrativas de la invención que ilustran algunos de sus aspectos y características. No son exhaustivos en la ilustración de sus muchos aspectos y realizaciones, y por tanto no limitan la invención de ningún modo. Muchos otros aspectos, características, y realizaciones de la invención se describen en la presente memoria. Muchos otros aspectos y realizaciones resultarán evidentes para los expertos en la técnica después de leer la solicitud y proporcionar la consideración debida a la luz de la técnica anterior y el conocimiento del campo.

Los párrafos numerados más abajo son auto-referentes. La expresión "de acuerdo con cualquiera de los anteriores o los siguientes" se refiere a todos los párrafos numerados precedentes y siguientes y sus contenidos. Del mismo modo, la expresión "de acuerdo con cualquiera de los anteriores" se refiere a todos los párrafos numerados precedentes y su contenido.

La expresión "de acuerdo con cualquiera de los siguientes" se refiere a todos los párrafos numerados siguen. Todas las expresiones "de acuerdo con Núm." son referencias directas a ese párrafo numerado, p. ej., "de acuerdo con 46." significa de acuerdo con el párrafo 46. en este grupo de párrafos numerados. Todas las referencias cruzadas son combinatorias, excepto las redundancias e incoherencias de alcance. Las referencias se utilizan explícitamente para proporcionar una descripción concisa que muestre la inclusión de las diferentes combinaciones del asunto sujeto con otro.

La presente invención hace referencia a una combinación de (a) 2xCon4(C), y (b) AMG706 y sus sales farmacéuticamente aceptables; para su uso en el tratamiento de un tumor sólido en un sujeto.

La invención también hace referencia a formulaciones farmacéuticamente aceptables de 2xCon4(C), combinado con AMG706 para su uso como antes. Preferiblemente, el tumor sólido es un adenocarcinoma, y más preferiblemente el adenocarcinoma es cáncer de colon. El sujeto puede ser un ser humano. 2xCon4(C) y AMG706 se pueden administrar en diferentes momentos, sucesivamente. La combinación de 2xCon4(C) y AMG706 se puede administrar al mismo tiempo. El AMG706 se puede administrar a una dosis de 25 mg a 125 mg una vez al día.

2xCon4(C) se describe en los documentos WO 2004/092215A2 o WO 03/05134A2, concretamente como 2xCon4(C);

AMG706, se describe en el documento US 2003/0125339 o en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6995162 o en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6878714, concretamente en las partes que describen AMG706.

Breve descripción de las Figuras

La Figura 1 presenta gráficamente los volúmenes tumorales (media \pm ETM) en el curso del estudio descrito en el Ejemplo 1, en el que tumores de xenoinjerto de células de cáncer colorrectal Colo205 en ratones hembra CD1 Nu/Nu se trataron con Tek472/Fc más IgG (grupo 4), Avastina® más Fc (grupo 1), Tek472/Fc y Avastina® (grupo 2), o IgG más Fc (control negativo) (grupo 3).

La Figura 2 presenta gráficamente los volúmenes tumorales en el curso del estudio descrito en el Ejemplo 2, en el que tumores de xenoinjerto de células de carcinoma epidermoide A431 en ratones hembra CD1 Nu/Nu se trataron con: (1) IgG1 (control) (grupo 1); (2) anticuerpo anti-Ang2 (Ab 536) y control (grupo 2); (3) anticuerpo anti-VEGF y control (grupo 3); y (4) anticuerpo anti-VEGF y anticuerpo anti-Ang2 (Ab 536) (grupo 4). Cada dato específico es la media para un grupo. Cada barra es \pm ETM.

La Figura 3 representa gráficamente los volúmenes tumorales en el curso del estudio descrito en el Ejemplo 3, en el que tumores de xenoinjerto de células de carcinoma de colon HT29 en ratones carentes de sistema inmune atímicos hembra se trataron con combinaciones de: (1) vehículo y Fc (grupo 1); (2) vehículo y 2xCon4(C) (grupo 2); (3) AMG 706 y Fe (grupo 3); y (4) AMG 706 y 2xCon4(C) (grupo 4). Cada dato específico es la media para un grupo de diez ratones. Cada barra representa el intervalo de ETM.

La Figura 4A a 4D presentan gráficamente los resultados del estudio descrito en el Ejemplo 4, en el que tumores de xenoinjerto de células de cáncer colorrectal Colo205 en ratones hembra CD1 Nu/Nu se trataron con nueve combinaciones de vehículos de control, 2xCon4(C), y/o 4TBPPAPC, como se expone en la Tabla 4A y la Tabla 4B. Los datos representan la media \pm ETM (n=10 ratones cada uno).

La Figura 4A representa gráficamente los volúmenes tumorales medios en el curso del tratamiento de los grupos 1, 2, 3, y 6 que se trataron con vehículos de control (grupo 1), una dosis subóptima de 4TBPPAPC (grupo 2), una dosis

subóptima de 2xCon4(C) (grupo 3), y una dosis subóptima de 4TBPPAPC y una dosis subóptima de 2xCon4(C) (grupo 6).

5 La Figura 4B representa gráficamente los volúmenes tumorales medios en el curso del tratamiento de los grupos 1, 2, 5, y 7 que se trataron con vehículos de control (grupo 1), una dosis subóptima de 4TBPPAPC (grupo 2), una dosis óptima de 2xCon4(C) (grupo 5), y una dosis subóptima de 4TBPPAPC y una dosis óptima de 2xCon4(C) (grupo 7).

La Figura 4C representa gráficamente los volúmenes tumorales medios en el curso del tratamiento de los grupos 1, 3, 4, y 8 que se trataron con vehículos de control (grupo 1), una dosis subóptima de 2xCon4(C) (grupo 3), una dosis óptima de 4TBPPAPC (grupo 4), y una dosis óptima de 4TBPPAPC y una dosis subóptima de 2xCon4(C) (grupo 8).

10 La Figura 4D representa gráficamente los volúmenes tumorales medios en el curso del tratamiento de los grupos 1, 4, 5, y 9 que se trataron con vehículos de control (grupo 1), una dosis óptima de 4TBPPAPC (grupo 4), una dosis óptima de 2xCon4(C) (grupo 5), y una dosis óptima de 4TBPPAPC y una dosis óptima de 2xCon4(C) (grupo 9).

La Figura 5 representa gráficamente los volúmenes tumorales medios en el curso del tratamiento de xenoinjertos de células de cáncer colorrectal Colo205 en ratones CD1 Nu/Nu tratados con AMG 706 (grupo 1), 2xCon4(C) (grupo 2), AMG 706 y 2xCon4(C) (grupo 3), y FC/vehículo (grupo 4), como se describe en el Ejemplo 5.

15 La Figura 6 representa gráficamente los volúmenes tumorales medios en el curso del tratamiento de xenoinjertos de células de cáncer colorrectal Colo205 en ratones CD1 Nu/Nu tratados con 2xCon4(C) (grupo 3), AvastinaTM (grupo 2), 2xCon4(C) y AvastinaTM (grupo 4), y control (grupo 1), como se describe en el Ejemplo 6.

20 La Figura 7 representa gráficamente los volúmenes tumorales medios en el curso del tratamiento de xenoinjertos de células de cáncer colorrectal Colo205 en ratones CD1 Nu/Nu tratados con 2xCon4(C) (grupo 3), AvastinaTM (grupo 2), 2xCon4(C) y AvastinaTM (grupo 4), y control (grupo 1), como se describe en el Ejemplo 7.

Definiciones

Los significados ilustrativos de ciertos términos y expresiones utilizados en la presente memoria se exponen a continuación.

25 "2xCon4(C)" es un peptidocuerpo selectivo de Ang2, como se describe en los documento WO 03/057134A2 y WO 2004/092215A2, concretamente en las partes que tienen que ver con 2xCon4(C), su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otros compuestos relacionados. 2xCon4(C) es a fusión de un fragmento Fc humano y dos copias de un péptido de unión específica a Ang2.

2xCon4(C) es también referido como 2xCon4(C) 1 K. Entre otros nombres para 2xCon4(C) se encuentran aquellos expuestos en las anteriores publicaciones WIPO.

30 "4TBPPAPC" es un inhibidor multi-quinasa que interfiere en las rutas de señalización de Kit, PDGR, y VEGF. Su nombre es N-(4-(1,1-dimetiletil)fenil)-2-((4-piridinilmetil)amino)-3-piridinocarboxamida, como se describe en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. US2003/0125339, concretamente en las partes que tienen que ver con 4TBPPAPC, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otros compuestos relacionados. 4TBPPAPC también se denomina N-[4-(terc-butil)fenil][2-[(4-piridinilmetil)-1]amino][3-piridinil]carboxamida.

35 "Un" o "una" significa en la presente memoria uno o más de uno; al menos uno. Cuando se utiliza en la presente memoria la forma en plural, ésta generalmente incluye el singular. El término "compuestos" incluye un compuesto, así como muchos compuestos. El término "sales" incluye una sal, así como muchas sales.

40 "Ab 536" es un anticuerpo específico de Ang2 humana que comprende la cadena pesada HC de 536 y la cadena ligera kappa de 536, como se describe en el documento WO 03/030833 y la Solicitud de los Estados Unidos Núm. 10/982,440, concretamente en las partes que tienen que ver con Ab 536, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otros anticuerpos relacionados. Ab 536 y los anticuerpos relacionados y similares también se describen en el documento WO 04/092215, concretamente en las partes que tienen que ver con Ab 536 y péptidos y proteínas relacionados, sus estructuras y propiedades, y los métodos para su elaboración y utilización.

"Ang" es una denominación para angiopoyetina.

45 "Ang2" es una denominación para angiopoyetina 2.

50 "Inhibidor de Ang2" según se utiliza en la presente memoria es cualquier sustancia que disminuye la actividad eficaz de Ang2 en una circunstancia dada. Los inhibidores de Ang2 pueden ser, por nombrar solo unos pocos ejemplos, moléculas pequeñas, péptidos, polipéptidos, proteínas, incluyendo más específicamente anticuerpos, incluyendo anticuerpos anti-Ang2, intracuerpos, maxicuerpos, minicuerpos, diacuerpos, proteínas de fusión con Fc tales como peptidocuerpos, receptocuerpos, proteínas receptoras de Tie-2 solubles y fragmentos, y una variedad de otros. Muchos inhibidores de Ang2 funcionan uniéndose a Ang2. Otros funcionan uniéndose a factores que se unen a o están unidos a Ang2. Otros inhibidores de Ang2 actúan más indirectamente, por ejemplo alterando modificaciones post-traduccionales reguladoras tales como la fosforilación que controla la señalización engendrada por Ang2 o alterando

la interacción de Ang2 con otros factores. Los inhibidores de Ang2 de acuerdo con la invención también pueden actuar de modos más indirectos para disminuir la actividad de Ang2. Cualquiera que sea el mecanismo, utilizado en la presente memoria, un inhibidor de Ang2 disminuye la actividad eficaz de Ang2 en una circunstancia dada por encima de lo que lo haría en la misma circunstancia en ausencia del inhibidor.

5 "AvastinaTM" es un anticuerpo monoclonal humanizado recombinante que se une a directamente a VEGF, y es comercializado por Genentech. También se denomina bevacizumab, R-435, rhuMAB-VEGF, y Número de Registro CAS 216974-75-3.

"BAY 43-9006" - véase Nexavar .

10 "Cáncer" y "canceroso" se refieren a o describen el estados fisiológico en mamíferos que se caracteriza típicamente por un crecimiento celular desregulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero no están limitados a, carcinoma, linfoma, sarcoma, blastoma, y leucemia. Los ejemplos más concretos de tales cánceres incluyen carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer cervical, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, carcinoma de colon, y cáncer de cabeza y cuello.

15 "Co-administrar" significa administrar en conjunto con otro, junto, coordinadamente, incluyendo administración simultánea o sucesiva de dos o más agentes.

"Que comprende" significa, sin otra limitación, incluyendo el referente, necesariamente, sin ninguna calificación o exclusión sobre qué más puede estar incluido. Por ejemplo, "una composición que comprende x e y" incluye cualquiera composición que contiene x e y, sin importar qué otros componentes pueden estar presentes en la composición.

20 Del mismo modo, "un método que comprende la etapa de x" incluye cualquier método en el que x se lleva a cabo, ya sea x la única etapa del método ya sea solamente una de las etapas, sin importar cuántas otras etapas pueda haber y sin importar cuán compleja sea x en comparación con ellas. "Compuesto de" y expresiones similares que utilizan palabras con la raíz "comprende" se utilizan en la presente memoria como sinónimos de "que comprende" y tienen el mismo significado.

25 "Compuesto de" es un sinónimo de que comprende (véase lo anterior).

"Deletéreo" significa, según se utiliza en la presente memoria, nocivo. A modo de ilustración, los procesos "deletéreos" incluyen, por ejemplo, efectos nocivos de los procesos de enfermedad y los efectos secundarios nocivos de los tratamientos.

30 "Disfunción" significa, según se utiliza en la presente memoria, un trastorno, enfermedad, o efecto deletéreo de un proceso por otra parte normal.

35 "Cantidad eficaz" significa generalmente una cantidad que proporciona el efecto local o sistémico deseado. Por ejemplo, una cantidad eficaz es una cantidad suficiente para llevar a efecto un resultado clínico beneficioso o deseado. Las cantidades eficaces se pueden proporcionar de una vez en una única administración o en cantidades fraccionadas que proporcionan la cantidad eficaz en varias administraciones. La determinación precisa de lo que se consideraría una cantidad eficaz se puede basar en factores individuales de cada sujeto, incluyendo su tamaño, edad, lesión, y/o de la enfermedad o lesión que se esté tratando, y de la cantidad de tiempo desde que se produjo la lesión o empezó la enfermedad. Un experto en la técnica será capaz de determinar la cantidad eficaz para un sujeto dado basándose en estas consideraciones que son rutinarias en la técnica. Según se utiliza en la presente memoria, "dosis eficaz" significa lo mismo que "cantidad eficaz."

40 "Ruta eficaz" significa generalmente una ruta que proporciona la liberación de un agente en un compartimento, sistema, o localización deseados. Por ejemplo, una ruta eficaz es aquella a través de la cual se puede administrar un agente para proporcionar en el sitio de acción deseado una cantidad del agente suficiente para llevar a efecto un resultado clínico beneficioso o deseado.

"SBF" significa suero bovino fetal.

45 "Kit" significa una colección de artículos utilizada para uno o varios propósitos dados, en particular en el contexto de la presente descripción, un conjunto de artículos en un (o más de un) paquete para su uso en una terapia combinada que comprende, por ejemplo, 2xCon4(C) y uno o ambos de AMG 706 y 4TBPPAPC.

"Modalidad" significa un tipo, enfoque, posibilidad, o método, tal como una modalidad terapéutica; esto es, un tipo de terapia.

50 "AMG 706" es un inhibidor a multi-quinasa que interfiere con las rutas de señalización de Kit, PDGF, y VEGF, como se describe en el documento US2003/0125339, concretamente en las partes que tienen que ver con AMG 706, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otros compuestos relacionados. Su nombre químico es N-(2,3-dihidro-3,3-dimetil-1H-indol-6-il)-2-[(4-piridinilmetil)amino]-3-piridinocarboxamida (I). Según se utiliza en la presente memoria el término AMG 706 incluye sales farmacéuticamente aceptables, en

particular, la sal difosfato, excepto que se proporcione de otro modo en la presente memoria. AMG 706 es también conocido como difosfato de motesanib.

"Nexavar " (también conocido como BAY 43-9006, tosilato de sorafenib, Número de Registro CAS 284461-73-0, inhibidor de quinasa raf, análogos de sorafenib, y IDDBCP150446, entre otros) es una omega-carboxidifenilurea sustituida que inhibe la activación de RAF-1, y de ese modo disminuye la fosforilación dependiente de RAF-1 de MEK-1 y ERK-1, como se describe en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 2003/0125359A1, el documento WO 03/047523A2, y Wilhelm et al., *Current Pharmaceutical Design*, vol. 8, págs. 2255-2257 (2002), concretamente en las partes que tienen que ver con Nexavar, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otras moléculas relacionadas. Su nombre químico es 4-(4-{3-[4-Cloro-3-(trifluorometil)fenil]ureido}fenoxi)-N2-metilpiridin-2-carboxamida. Se han producido varios derivados. Entre estos están los derivados fluorados descritos en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 2005/0038080A1 y el documento WO 2005/009961A2, concretamente en cuanto a estos y otros compuestos de difenilurea farmacéuticamente activos.

"Dosis óptima" significa una dosis específica o un intervalo de dosis que proporcionan el mejor resultado en las circunstancias concretas y para el fin de su administración.

"PBS" significa solución salina tamponada con fosfato.

"Pepticuerpo" se refiere a una molécula que comprende un dominio Fc de un anticuerpo anclado a al menos un péptido. La producción de pepticuerpos se describe generalmente en la publicación PCT WO 00/24782, publicada el 4 de Mayo de 2000, concretamente en cuanto a la estructura, síntesis, propiedades, y usos de pepticuerpos, y a los mismos específicamente con respecto a los inhibidores de Ang2 y los inhibidores de VEGF.

"Derivado farmacéuticamente aceptable" es cualquier derivado farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención, tal como una sal, un éster, un metabolito, o un residuo de un compuesto de esta invención.

"PTK/ZK", también conocido como vatalanib, es un inhibidor multireceptor de tirosina quinasa de VEGF que se dice que bloquea la angiogénesis y la limfangiogénesis tumoral. Su nombre químico es N-(4-clorofenil)-4-(piridin-4-ilmetil)ftalazin-1-amina. También se conoce como Número de Registro CAS 212141-54-3 y 212142-18-2, PTK787, PTK787/ZK, PTK-787/ZK-222584, PTK787/ZK222584, ZK-22584, VEGF-TKI, VEGF-RKI, PTK-787A, DE-00268, CGP-79787, CGP-79787D, vatalanib, y ZK-222584. Véanse Thomas, A., et al., *J. of Clin. Oncology*, 23(18): 4162-4171 (2005); Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 20050118600A1, concretamente en cuanto a la estructura, la síntesis, las propiedades, y los usos de PTK/ZK y compuestos relacionados.

"ETM" significa error típico de la media.

"Sujeto" significa un vertebrado, tal como un mamífero, tal como un ser humano. Los mamíferos incluyen, pero no están limitados a, seres humanos, animales de granja, animales de deporte, y mascotas.

Los sujetos que necesitan tratamiento mediante los métodos y/o composiciones de la presente invención incluyen aquellos que padecen un trastorno, disfunción, o enfermedad, o un efecto secundario de los mismos, o un efecto secundario de un tratamiento de los mismos.

"Sutent®" es un inhibidor de tirosina quinasa receptora de molécula pequeña con el nombre químico ([2-dietilaminoetil]amiduro de ácido 5-[5-fluoro-2-oxo-1,2-dihidroindol-(3Z)-ilidenometil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxílico). Sutent es también conocido como malato de sunitinib, SU11248, SU-11248, SU-011248, y SU-11248J, y se ha informado de que tiene actividades anti-angiogénicas y anti-tumorales. Véase Mendel, D., et al., *Clinical Cancer Research*, 9:327-337 (2003); Schlessinger, J., *The Scientist*, 19(7):17 (2005), concretamente en cuanto a la estructura, síntesis, propiedades, y usos de Sutent® y compuestos relacionados.

"Tek472/Fc" es una fusión de los 472 aminoácidos N-terminales de Tek a una porción de 232 aminoácidos de la región Fc de IgG1 humana, como se describe en el documento WO 00/75323A1, concretamente en las partes que tienen que ver con Tek472/Fc, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otros polipéptidos de fusión relacionados. El fragmento Tek N-terminal constituye un péptido Tek soluble que está perdiendo motivos de tipo III de fibronectina. Éste tiene mucha más afinidad por los ligandos de Tek que otros polipéptidos Tek que comprende dominios extra-celulares completos.

"Terapéuticamente eficaz" se utiliza generalmente para calificar la cantidad de un agente para que incluya aquellas cantidades que logran una mejora en la gravedad del trastorno. Por ejemplo, los agentes terapéuticos neoplásicos eficaces prolongan la supervivencia del paciente, inhiben el crecimiento de células que proliferan rápidamente asociado con el neoplasma, o llevan a cabo una regresión del neoplasma. Los tratamientos que son terapéuticamente eficaces dentro del significado del término según se utiliza en la presente memoria, incluyen tratamientos que mejoran la calidad de vida de un sujeto incluso si no mejoran las consecuencias de la enfermedad per se.

"Tratar", "tratando," o "tratamiento" se utilizan ampliamente en relación con la invención y cada uno de tales términos

incluye, entre otros, la prevención, la mejora, la inhibición, o la cura de una deficiencia, disfunción, enfermedad, u otro proceso deletéreo, incluyendo aquellos que interfieren en y/o resultan de una terapia.

5 "Inhibidor de VEGF" según se utiliza en la presente memoria es cualquier sustancia que disminuye la señalización por medio de la ruta de VEGF-VEGFR. Los inhibidores de VEGF pueden ser, por nombrar solo unos pocos ejemplos, moléculas pequeñas, péptidos, polipéptidos, proteínas, incluyendo más específicamente anticuerpos, incluyendo anticuerpos anti-VEGF, anticuerpos anti-VEGFR, intracuerpos, maxicuerpos, minicuerpos, diacuerpos, proteínas de fusión con Fc tales como pepticuerpos, recepticuerpos, proteínas y fragmentos de receptores solubles de VEGF, y otros varios.

10 Muchos inhibidores de VEGF funcionan uniéndose a VEGF o a un receptor de VEGF. Otros funcionan más indirectamente uniéndose a factores que se unen a VEGF o a un receptor de VEGF o a otros componentes de la ruta de señalización de VEGF. Otros inhibidores más de VEGF actúan alterando las modificaciones post-traduccionales reguladoras que modulan la señalización de la ruta de VEGF. Los inhibidores de VEGF de acuerdo con la invención también pueden actuar por medio de mecanismos más indirectos. Cualquiera que sea el mecanismo implicado, utilizado en la presente memoria, un inhibidor de VEGF disminuye la actividad eficaz de la
15 ruta de señalización de VEGF en una circunstancia dada por encima de lo que sucedería en la misma circunstancia en ausencia del inhibidor.

Descripción de la invención

20 Los autores de las invenciones descritas en la presente memoria han examinado los perfiles terapéuticos de diversas combinaciones de inhibidores de VEGF e inhibidores de Ang2. Han encontrado, de acuerdo con ciertos aspectos y realizaciones preferidos de la invención, que la combinación de inhibidores puede proporcionar ventajas sobre el uso de uno u otro solos. A modo de introducción en estos y otros aspectos de la invención, se proporciona a continuación una breve revisión de la ruta de VEGF y ruta de Ang2.

Ruta de VEGF

25 Una ruta central en la red que regula el crecimiento y la diferenciación del sistema vascular y sus componentes, tanto durante el desarrollo embrionario como durante el crecimiento normal, y en un amplio número de anomalías patológicas y enfermedades, está mediada por el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular ("VEGF") (denominado originalmente Factor de Permeabilidad Vascular o VPF) y los receptores celulares de VEGF ("VEGFR"). (Véase G. Breier et al., *Trends in Cell Biology*, 6:454-456 (1996)). Por lo tanto éste ha sido un foco de estudio y una diana para el desarrollo de fármacos.

30 El VEGF es una glicoproteína de 46 kDa unida por puentes disulfuro, dimerica relacionada con el Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas ("PDGF"). Es producido por líneas celulares normales y líneas celulares tumorales; es un mitógeno selectivo de células endoteliales; muestra actividad angiogénica en sistemas de ensayo *in vivo* (p. ej., córnea de conejo); es quimiotáctico para células endoteliales y monocitos; e induce activadores de plasminógeno en células endoteliales, que están implicadas en la degradación proteolítica de la matriz extracelular
35 durante la formación de los capilares.

Se conocen varias isoformas de VEGF, que si bien muestran una actividad biológica comparable, difieren en el tipo de células que las secretan y en su capacidad de unión a heparina. Además, existen otros miembros de la familia de VEGF, tales como el Factor de Crecimiento Placentario ("PGF") y VEGF-C.

40 Los receptores celulares de VEGF (VEGFR) son tirosina quinasas receptoras transmembrana. Están caracterizados por un dominio extracelular con siete dominios de tipos inmunoglobulina y un dominio tirosina quinasa intracelular.

Se han caracterizado diversos tipos de receptor de VEGF, incluyendo VEGFR-1 (también conocido como flt-1), VEGFR-2 (también conocido como KDR), y VEGFR-3.

45 Un gran número de tumores humanos, especialmente gliomas y carcinomas, expresan altos niveles de VEGF y VEGFR. Esto ha conducido a la hipótesis de que el VEGF liberado por las células tumorales estimula el crecimiento de los capilares sanguíneos y la proliferación del endotelio tumoral de una manera paracrina y, a través de una mejora del suministro de sangre, acelera el crecimiento tumoral. El incremento de la expresión de VEGF podría explicar la aparición de edema cerebral en pacientes con glioma.

Se ha encontrado una evidencia directa del papel del VEGF como factor de angiogénesis tumoral *in vivo* en estudios en los que se ha inhibido la expresión o la actividad de VEGF.

50 Esto se ha conseguido con anticuerpos anti-VEGF, con mutantes de VEGFR-2 dominantes negativos que inhiben la transducción de la señal, y con ARN antisentido de VEGF. Todos los enfoques condujeron a una reducción en el crecimiento de las líneas celulares de glioma u otras líneas de células tumorales *in vivo* como resultado de la inhibición de la angiogénesis tumoral.

Los VEGF contribuyen a la hiperpermeabilidad vascular y a la formación de edema.

En efecto, la hiperpermeabilidad vascular y el edema que está asociado con la expresión o la administración de muchos otros factores de crecimiento parecen estar mediados por la producción de VEGF.

- Las citoquinas inflamatorias estimulan la producción de VEGF. La hipoxia da como resultado una marcada regulación al alza del VEGF en numerosos tejidos. De este modo, las situaciones que implican infarto, oclusión, isquemia, anemia, o deterioro circulatorio invocan típicamente respuestas mediadas por VEGF/VPF. La hiperpermeabilidad vascular, el edema asociado, el intercambio transendotelial alterado y la extravasación macromolecular, que a menudo está acompañada de diapédesis, pueden dar como resultado un depósito excesivo de matriz, una proliferación estromal aberrante, fibrosis, etc. Por tanto, la hiperpermeabilidad mediada por VEGF puede contribuir significativamente a trastornos con estos rasgos etiológicos.
- Por lo tanto, estos reguladores de angiogénesis se han convertido en una diana terapéutica importante. Véase Hicklin y Ellis, *J. Clin Oncology*, 23:1011-1027 (2005).

Ruta Tie2/TEK

- La tirosina quinasa receptora Tie2 (referida como "Tie2," "Tie2R," "ORK," "Tie2/Tek," y "Tek murina") y sus ligandos (las angiopoyetinas) también son conocidos por ser componentes de señalización críticos en la ruta reguladora de la angiogénesis (Gale, N. W. y Yancopoulos, G. D., *Genes Dev.* 13:1055-1066 (1999)). Existen 4 angiopoyetinas conocidas, angiopoyetina 1 ("Ang1") a angiopoyetina 4 ("Ang4"), y también son referidas como "ligandos de Tie2". (Davis, S., et al., *Cell*, 87:1161-1169 (1996); Grosios, K., et al., *Cytogenet Cell Genet*, 84:118-120 (1999); Holash, J., et al., *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42:1617-1625 (1999); Koblizek, T. I., et al., *Current Biology*, 8:529-532 (1998); Lin, P., et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 95:8829-8834 (1998); Maisonpierre, P. C., et al., *Science*, 277:55-60 (1997); Papapetropoulos, A., et al., *Lab Invest*, 79:213-223 (1999); Sato, T. N., et al., *Nature*, 375:70-74 (1998); Shiu, K. G., et al., *Circulation*, 98:2081-2087 (1998); Suri, C., et al., *Cell*, 87:1171-1180 (1996); Suri, C., et al., *Science*, 282:468-471 (1998); Valenzuela, D. M., et al., *Proc Natl to Acad Sci USA*, 96:1904-1909 (1999); Witzenbichler, B., et al., *J Biol Chem*, 273:18514-18521 (1998)). También se ha demostrado que la unión de Ang1 a Tie2 estimula la fosforilación del receptor en células endoteliales cultivadas. Se ha demostrado que Ang2 es tanto agonista como antagonista de la fosforilación del receptor de Tie2 (Davis, S., et al., (1996), supra; Maisonpierre, P.C., et al., (1997), supra; Kim, I., J.H. Kim, et al., *Oncogene* 19(39):4549-4552 (2000)).

- Los fenotipos de ratón con los genes Tie2 y Ang1 desactivados son similares y sugieren que la fosforilación de Tie2 estimulada por Ang1 media la remodelación y la estabilización de los vasos en desarrollo en el útero a través del mantenimiento de la adherencia celular del soporte de las células endoteliales (Dumont, D.J., et al., *Genes & Development*, 8:1897-1909 (1994); Sato, T. N., et al., *Nature*, 376:70-74 (1995); Suri, C., et al., (1996), supra). Se piensa que el papel de Ang1 en la estabilización de los vasos se conserva en el adulto, donde es expresada ampliamente y constitutivamente (Hanahan, D., *Science*, 277:48-50 (1997); Zagzag, D., et al., *Experimental Neurology*, 159:391-400 (1999)). En contraste, la expresión de Ang2 está limitada principalmente a sitios de remodelado vascular, donde se piensa que bloquea la función de Ang1, induciendo de ese modo un estado de plasticidad vascular que conduce a angiogénesis (Hanahan, D., (1997), supra; Holash, J., et al., *Science*, 284:1994-1998 (1999); Maisonpierre, P. C., et al., (1997), supra).

- Se ha informado sobre una variedad de publicaciones a cerca de la expresión selectiva de Ang2 en los vasos en estados de enfermedad que tienen un componente angiogénico asociado. A este respecto, se ha informado sobre Ang2 en psoriasis, degeneración macular, y cáncer, por ejemplo (Bunone, G., et al., *American Journal of Pathology*, 155:1967-1976 (1999); Etch, T., et al., *Cancer Research*, 61:2145-2153 (2001); Hangai, M., et al., *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42:1617-1625 (2001); Holash, J., et al., (1999) supra; Kuroda, K., et al., *Journal of Investigative Dermatology*, 116:713-720 (2001); Otani, A., et al., *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40:1912-1920 (1999); Stratmann, A., et al., *American Journal of Pathology*, 153:1459-1466 (1998); Tanaka, S., et al., *J Clin Invest*, 103:34-345 (1999); Yoshida, Y., et al., *International Journal of Oncology*, 15:1221-1225 (1999); Yuan, K., et al., *Journal of Periodontal Research*, 35: 165- 171 (2000); Zagzag, D., et al., (1999) supra). La mayor parte de estos estudios estuvieron dirigidos a neoplasmas y, en resumen, establecen la expresión de Ang2 vascular en una amplia variedad de tipos tumorales.

- En contraste con su expresión en la angiogénesis patológica, la expresión de Ang2 en tejidos normales es extremadamente limitada (Maisonpierre, P. C., et al., (1997), supra; Mezquita, J., et al., *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 260:492-498 (1999)). Por supuesto, los tres sitios principales de angiogénesis en un adulto normal son el ovario, la placenta, y el útero, y estos son los tres sitios en los que se ha detectado de manera preponderante ARNm de Ang2 tejidos adultos no neoplásicos.

- Los estudios funcionales proporcionan una evidencia funcional de que Ang2 es un factor en la angiogénesis asociada a tumores. Ahmad et al. (*Cancer Res.*, 61: 1255-1259 (2001)) informaron de que la expresión en exceso de Ang2 en un modelo de xenoinjerto de ratón aumentó el crecimiento tumoral.

Etoh et al., supra, y Tanaka et al., supra, informaron de una manera similar de que la expresión en exceso de Ang2 da como resultado la hipervascularidad tumoral. En contraste, Yu et al. (*Am. J. Path.*, 158:563-570 (2001)) informaron de que la expresión en exceso de Ang2 en células de carcinoma de pulmón de Lewis y carcinoma

mamario TA3 prolongaron la supervivencia de los ratones a los que se habían inyectado los correspondientes transfectantes.

Como resultado se ha sugerido que Ang1, Ang2, y/o Tie2 son una diana posible para una terapia anticancerosa. Por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Núms. 6.166.185, 5.650.490, y 5.814.464 describen cada una el concepto de anticuerpos anti-ligando de Tie2 y cuerpos receptores. Lin et al. (*Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 95:8829-8834 (1998)) inyectaron un adenovirus que expresaba Tie2 soluble en ratones, e informaron de que esto da como resultado la producción de Tie2 soluble y disminuía el número y el tamaño de los tumores en los ratones. En un estudio relacionado, Lin et al. (*J. Clin. Invest.*, 100:2072-2078 (1997)) inyectaron una forma soluble de Tie2 en ratas, y concluyeron que este agente reducía el tamaño del tumor en la ratas. Siemeister et al. (*Cancer Res.*, 59:3185-3189 (1999)) inyectaron líneas celulares de melanoma humano que expresaban en dominio extracelular de Tie2 en ratones carentes de sistema inmune e informaron sobre la producción de Tie2 soluble en los animales que produjo una "inhibición significativa" del crecimiento tumoral y la angiogénesis tumoral.

De hecho, si bien ha habido un notable progreso en el desarrollo de agentes monoterapéuticos que eligen como diana una ruta, todavía no se han desarrollado agentes para elegir como diana ambas rutas que proporcionan mejores resultados que las correspondientes monoterapias.

Además, como se ilustra por medio de los ejemplos expuestos en la presente memoria, al contrario de la visión predominante basada en la independencia de la ruta, muchas combinaciones de agentes que eligen juntas como diana ambas rutas no funcionan mejor que las monoterapias con cada uno de los agentes individuales.

La invención descrita en la presente memoria proporciona sin embargo terapias combinadas que se pueden utilizar para tratar enfermedades con eficacias que se equiparan y en algunos casos pueden exceder los resultados obtenidos utilizando monoterapias. Los inhibidores de Ang2 y los inhibidores de VEGF útiles en la combinación de acuerdo con la invención descrita en la presente memoria se comentan a continuación.

Inhibidores de Ang2, inhibidores de VEGF y combinaciones de los mismos

La invención descrita en la presente memoria en varios de sus aspectos preferidos y realizaciones de los mismos proporciona una combinación de

(a) 2xCon4(C), y

(b) AMG706 y sus sales farmacéuticamente aceptables; para su uso en el tratamiento de un tumor sólido en un sujeto.

Inhibidores de Ang2

Entre los inhibidores de Ang2 se encuentran los siguientes: (a) un polipéptido de origen no natural que se une específicamente a Ang2, incluyendo, pero no limitado a, peptidocuerpos que se unen específicamente a Ang2; (b) un anticuerpo de origen no natural que se une a Ang2, que comprende una o más CDR heterólogas; y (c) un polipéptido de origen no natural que comprende un fragmento del receptor soluble que se une específicamente a Ang2 y una región Fc de un anticuerpo o una porción de la misma.

Entre los inhibidores de Ang2 se encuentran los siguientes: (a) un péptido o peptidocuerpo de origen no natural que se unen específicamente a Ang2, como se describe en los documentos WO 2004/092215A2 o WO 03/05134A2, concretamente en cuanto a estos inhibidores de Ang2; (b) un anticuerpo de origen no natural que se une a Ang2, y comprende una o más CDR heterólogas, como se describe en el documento WO 03/030833A2 y la Solicitud de los Estados Unidos Núm. 10/982.440, concretamente en cuanto a estos inhibidores de Ang2; y (c) un polipéptido de origen no natural que comprende un fragmento del receptor de Tie2/Tek soluble que carece al menos de parte de la región que contiene los motivos FNIII, como se describe en el documento WO 00/75323A1 y polipéptidos relacionados como se describe en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.166.185, concretamente en cuanto a estos inhibidores de Ang2.

Entre los inhibidores de Ang2 se encuentran los siguientes: (a) 2xCon4(C), como se describe en los documentos WO 2004/092215A2 y WO 03/05134A2 concretamente en cuanto a 2xCon4(C); (b) Ab 536, como se describe en el documento WO 03/030833^{a2} y en la Solicitud de los Estados Unidos Núm. 10/982.440, concretamente en cuanto a Ab 536; y (c) Tek472/Fc, como se describe en el documento WO 00/75323A1 o polipéptidos relacionados como se describe en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.166.185, concretamente en cuando a Tek472/Fc.

A este respecto, ciertos inhibidores de Ang2 se describen adicionalmente más abajo, entre estos de la invención.

(1) 2xCon4(C)

2xCon4(C) es un peptidocuerpo selectivo de Ang2, como se describe en los documentos WO 03/05134A2 y WO 2004/092215A2 concretamente en las partes que tienen que ver con 2xCon4(C), su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otros compuestos relacionados. 2xCon4(C) es una fusión de un fragmento Fc humano y dos copias de un péptido de unión específico de Ang2. 2xCon4(C) también es referido como

2xCon4(C) 1K.

(2) *Ab 536*

5 Ab 536 es un anticuerpo específico de Ang2 humana que comprende la cadena pesada HC 536 y la cadena ligera kappa 536, como se describe en el documento WO 03/030833 y en la Solicitud de los Estados Unidos Núm. 10/982.440, concretamente en las partes que tienen que ver con Ab 536, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y su utilización, y otros anticuerpos relacionados.

(3) *Tec472/Fc*

10 Tec472/Fc es una fusión de los 472 aminoácidos N-terminales de Tec con una porción de 232 aminoácidos de la región Fc de IgG1 humana, como se describe en el documento WO 00/75323A1, concretamente en las partes que tienen que ver con Tec472/Fc, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y su utilización, y otros polipéptidos de fusión relacionados. El fragmento de Tec N-terminal constituye un péptido de Tec soluble que ha perdido los motivos de fibronectina de tipo III. Éste tiene una afinidad mucho mayor por los ligandos de Tec que otros polipéptidos de Tec que comprenden los dominios extracelulares completos.

Inhibidores de VEGF

15 Se han descrito en la bibliografía numerosos inhibidores de VEGF. Además de los descritos con detalle más abajo, los inhibidores de VEGF se describen en los siguientes documentos de patente: US 2003/0105091, US2006/0241115, US 5.521.184, US 5.770.599, US 5.990.141, US 6.235.764, US 6.258.812, US 6.515.004, US 6.630.500, US 6.713.485, WO 2005/070891, WO 01/32651, WO 02/68406, WO 02/66470, WO 02/55501, WO 04/05279, WO 04/07481, WO 04/07458, WO 04/09784, WO 02/59110, WO 99/450029, WO 00/59509, WO 99/61422, WO 00/12089, WO 00/02871, y WO 01/37820, concretamente en las partes que tienen que ver con los inhibidores de VEGF.

Los siguientes se encuentran entre los inhibidores de VEGF específicos:

ABT-869 (Abbott) incluyendo formulaciones para la administración oral e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

25 AEE-788 (Novartis) (también denominado AE-788 y NVP-AEE-788, entre otros) incluyendo formulaciones para la administración oral e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

AG-13736 (Pfizer) (también denominado AG-013736) incluyendo formulaciones para la administración oral e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

AG-028262 (Pfizer) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

30 Angiostatina (EntreMed) (también denominado Número de Registro CAS 86090-08-6, K1-4, y rhuAngiostatina, entre otros) inhibidores íntimamente relacionados como se describe, entre otros, en las Patentes de los Estados Unidos Núms. 5.792.825 y 6.025.688, concretamente en partes relacionadas con la Angiostatina e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados, sus estructuras y propiedades, y los métodos para su elaboración y utilización;

35 AvastinaTM (Genentech) (también denominada bevacizumab, R-435, rhuMAB-VEGF, y Número de Registro CAS 216974-75-3, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

AVE-8062 (Ajinomoto Co. y Sanofi-aventis) (también denominado AC-7700 y análogo de combretastatina A4, entre otros), e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

AZD-2171 (AstraZeneca) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

40 Nexavar® (Bayer AG y Onyx) (también denominado Número de Registro CAS 284461-73-0, BAY-43-9006, inhibidor de quinasa raf, sorafenib, análogos de sorafenib, e IDDBCP 150446, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

BMS-387032 (Sunesis y Bristol-Myers Squibb) (también denominado SNS-032 y Número de Registro CAS 345627-80-7, entre otros) e inhibidores VEGF íntimamente relacionados;

45 CEP-7055 (Cefalon y Sanofi-aventis) (también denominado CEP-11981 y SSR-106462, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

CHIR-258 (Chiron) (también denominado Número de Registro CAS 405169-16-6, GFKI, y GFKI-258, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;

CP-547632 (OSI Pharmaceuticals y Pfizer) (también denominado Número de Registro CAS 252003-65-9, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados tales como, por ejemplo, CP-564959;

- E-7080 (Eisai Co.) (también denominado Número de Registro CAS 417716-92-8 y ER-203492-00, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- 786034 (GlaxoSmithKline) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- GW-654652 (GlaxoSmithKline) e inhibidores de indazolilpirimidina de Kdr íntimamente relacionados;
- 5 IMC-1C11 (ImClone) (también denominado DC-101 y c-p1C11, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- KRN-951 (Kirin Brewery Co.) y otros inhibidores de VEGF de quinolin-urea íntimamente relacionados;
- PKC-412 (Novartis) (también denominado Número de Registro CAS 120685-11-2, benzolestaurosporina, CGP-41251, midostaurina, y STI-412, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- 10 PTK-787 (Novartis y Schering) (también denominado Número de Registro CAS 212141-54-3 y 212142-18-2, PTK/ZK, PTK-787/ZK-222584, ZK-22584, VEGF-TKI, VEGF-RKI, PTK-787A, DE-00268, CGP-79787, CGP-79787D, vatalanib, ZK-222584, entre otros) e inhibidores de VEGF de derivados de anilinoftalazina íntimamente relacionados;
- SU11248 (Sugen y Pfizer) (también denominado SU-11248, SU-011248, SU-11248J, Sutent®, y malato de sunitinib, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- 15 SU-5416 (Sugen y Pfizer/Pharmacia) (también denominado Número de Registro CAS 194413-58-6, semaxanib, 204005-46-9, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- SU-6668 (Sugen y Taiho) (también denominado Número de Registro CAS 252916-29-3, SU-006668, y SU-68, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados como se describe, entre otros, en, los documentos WO-09948868, WO-09961422, y WO-00038519, concretamente en las partes que tienen que ver con SU-6668 e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados, sus estructuras y propiedades, y los métodos para su elaboración y utilización;
- 20 Trampa de VEGF (Regeneron y Sanofi-aventis) (también denominada AVE-0005 y Trampa de VEGF Sistémica, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados como se describe, entre otros, en, el documento WO 2004110490, concretamente en partes relacionadas con la Trampa de VEGF y los inhibidores de VEGF íntimamente relacionados, sus estructuras y propiedades, y los métodos para su elaboración y utilización;
- 25 Talidomida (Celgene) (también denominada Número de Registro CAS 50-35-1, Synovir, Talidomida Pharmion, y Talomid, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- XL-647 (Exelixis) (también denominado EXEL-7647, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- XL-999 (Exelixis) (también denominado EXEL-0999, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- 30 XL-880 (Exelixis) (también denominado EXEL-2880, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- ZD-6474 (AstraZeneca) (también denominado Número de Registro CAS 443913-73-3, Zactima, y AZD-6474, entre otros) e inhibidores de VEGF de anilinoquinazolina íntimamente relacionados; y
- ZK-304709 (Schering) (también denominados inhibidores de CDK (derivados de indirubina), ZK-CDK, MTGI, e inhibidor del crecimiento tumoral multidiana, entre otros) y otros compuestos íntimamente relacionados que incluyen los inhibidores de VEGF de derivados de indirubina descritos en los documentos WO 00234717, WO 02074742, WO 02100401, WO 00244148, WO 02096888, WO 03029223, WO 02092079, y WO 02094814, concretamente en las partes que tienen que ver con estos e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados, sus estructuras y propiedades, y los métodos para su elaboración y utilización.
- 35 También entre los inhibidores de VEGF se encuentran: Pazopanib, CDP791, Enzastaurina, BIBF 1120, BAY 573952, BAY 734506, XL 184, IMC-1121B, CEP 701, SU 014813, SU 10944, SU 12662, OSI-930, y BMS 582664, e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados.
- Además de los inhibidores anteriores que actúan directamente sobre VEGF o VEGFR, los siguientes inhibidores tienen propiedades antiangiogénicas:
- 45 ZD-6126 (AstraZeneca y Angiogene) (también denominado Número de Registro CAS 219923-05-4, fosfato de N-acetilcolchinol, ANG-453, AZD-6126, derivados de ZD-6126 y ZM-445526, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados tales como otros inhibidores de la serie ANG-400;
- Imatinib (Novartis) (también denominado Número de Registro CAS 152459-95-5 y 220127-57-1, Glivec, Gleevec, STI-571, y CGP-57148, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados;
- RAD-001 (Novartis) (también denominado Número de Registro CAS 159351-69-6, RAD-001, SDZ-RAD, Certican, y

everolimus, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados; y

BMS-354825 (Bristol-Myers Squibb) (también denominado Número de Registro CAS 302962-49-8, inhibidor de quinasa Src/Abl, y dasatinib, entre otros) e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados.

También son útiles en la invención a este respecto Volociximab, CCI-779, 17-AAG, DMXAA, CI-1040, y CI-1033.

5 Entre los inhibidores de VEGF preferidos en la invención se encuentran los siguientes: (a) un compuesto descrito en el documento US2003/0125339 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6995162 concretamente en las partes que describen los inhibidores de VEGF; (b) un derivado de alquilamina sustituido descrito en los documentos US2003/0125339 o US2003/0225106 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6995162 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6878714, concretamente en las partes que describen los inhibidores de VEGF; (c) un anticuerpo monoclonal humanizado de origen no natural que se une a VEGF; (d) una omega-carboxiarildifenilurea sustituida o derivado de la misma como se describe en los documentos WO 00/42012, WO 00/41698, US2005/0038080A1, US2003/0125359A1, US2002/0165394A1, US2001/003447A1, US2001/0016659A1, y US2002/013774A1, concretamente en las partes que describen los inhibidores de VEGF anteriores; (e) una anilinoftalazina o derivado de la misma que se une a, e inhibe la actividad de, tirosina quinasa receptores múltiples incluyendo la unión al dominio proteína quinasa y la inhibición de VEGFR1 y VEGFR2; (f) ([2-dietilaminoetil]amiduro de ácido 5-[5-fluoro-2-oxo-1,2-dihidroindol-(3Z)-ilidenometil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxílico) o derivados del mismo que son inhibidores de VEGF; y (g) inhibidores de VEGF como se describe en el documento US2006/0241115, incluyendo aquellos de Fórmula IV.

Entre los inhibidores de VEGF se encuentran los siguientes: (a) 4TBPPAPC o un compuesto íntimamente relacionado descrito en el documento US2003/0125339 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6995162 concretamente en las partes que describen 4TBPPAPC e inhibidores de VEGF íntimamente relacionados; (b) AMG 706 o un derivado de alquilamina sustituido íntimamente relacionado descrito en el documento US2003/0125339 o US2003/0225106 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6995162 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6878714, concretamente en las partes que describen AMG 706 y estos inhibidores de VEGF íntimamente relacionados; (c) Avastina™ o un anticuerpo monoclonal humanizado de origen no natural íntimamente relacionado que se une a VEGF, es un inhibidor de VEGF, y tiene una identidad de secuencia de al menos 90% con Avastina™; (d) Nexavar o una omega-carboxiarildifenilurea sustituida íntimamente relacionada o un derivado de la misma descritos en los documentos WO 00/42012, WO 00/41698, US2005/0038080A1, US2003/0125359A1, US2002/0165394A1, US2001/003447A1, US2001/0016659A1, y US2002/013774A1, concretamente en las partes que describen estos inhibidores de VEGF; (e) PTK/ZK o una anilinoftalazina íntimamente relacionada o un derivado de la misma que se une a, e inhibe la actividad de, tirosina quinasa receptores múltiples incluyendo la unión al dominio proteína quinasa y la inhibición de VEGFR1 y VEGFR2; (f) Sutent® o un derivado íntimamente relacionado de ([2-dietilaminoetil]amiduro de ácido 5-[5-fluoro-2-oxo-1,2-dihidroindol-(3Z)-ilidenometil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-carboxílico) que es un inhibidor de VEGF; y (g) inhibidores de VEGF como se describe en el documento US2006/0241115, incluyendo aquellos de Fórmula IV.

Entre los inhibidores de VEGF se encuentran los siguientes: (a) 4TBPPAPC, como se describe en el documento US2003/0125339 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6995162 concretamente en las partes que describen 4TBPPAPC; (b) AMG 706, como se describe en el documento US2003/0125339 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6995162 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6878714 concretamente en las partes que describen AMG 706; (c) Avastina™; (d) Nexavar, como se describe en los documentos WO 00/42012, WO 00/41698, US2005/0038080A1, US2003/0125359A1, US2002/0165394A1, US2001/003447A1, US2001/0016659A1, y US2002/013774A1, concretamente en las partes que describen Nexavar®; (e) PTK/ZK; (f) Sutent®, y (g) inhibidores de VEGF de Fórmula IV como se describe en el documento US2006/0241115.

A este respecto, los inhibidores de VEGFes se describen adicionalmente a continuación, entre estos AMG 706 de la invención.

(1) AMG 706

AMG 706 es un inhibidor multiquinasa que interfiere en las rutas de señalización de Kit, PDGF, y VEGF, como se describe en el documento US2003/0125339, o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6995162 o la Patente de los Estados Unidos Núm. 6878714 concretamente en partes que tienen que ver con AMG 706, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otros compuestos relacionados. Tiene el nombre de N-(2,3-dihidro-3,3-dimetil-1H-indol-6-il)-2-[(4-piridinilmetil)amino]-3-piridinocarboxamida (I). Según se utiliza en la presente memoria el término AMG 706 incluye las sales farmacéuticamente aceptables, en particular, la sal difosfato, excepto que se proporcione de otro modo en la presente memoria. AMG 706 también es conocido como difosfato de motesanib.

55 (2) 4TBPPAPC

4TBPPAPC es un inhibidor multiquinasa que interfiere en las rutas de señalización de Kit, PDGR, y VEGF. Su nombre es N-(4-(1,1-dimetiletil)fenil)-2-((4-piridinilmetil)amino)-3-piridinocarboxamida, como se describe en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. US2003/0125339, concretamente en las partes que tienen que ver

con 4TBPPAPC, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otros compuestos relacionados. 4TBPPAPC también se denomina N-[4-(terc-butil)fenil]{2-[4-piridilmetil]amino}(3-piridil)}carboxamida, como se expone en el párrafo [0649] de la solicitud de patente precedente.

(3) *Avastina*TM

- 5 *Avastina*TM es un anticuerpo monoclonal humanizado recombinante que se une a directamente a VEGF, y es comercializado por Genentech. También es conocido como bevacizumab.

(4) *Nexavar*[®]

- 10 *Nexavar*[®] (también conocido como BAY 43-9006 y sorafenib) es una omega-carboxidifenilurea sustituida que inhibe la activación de RAF-1 disminuyendo de ese modo la fosforilación dependiente de RAF de MEK-1 y ERK-1, como se describe en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 2003/0125359A1, WO 03/047523A2, y Wilhelm et al., *Current Pharmaceutical Design*, vol. 8, págs. 2255-2257 (2002), concretamente en las partes que tienen que ver con *Nexavar*, su estructura y propiedades, los métodos para su elaboración y utilización, y otras moléculas relacionadas. Su nombre químico es 4-(4-{3-[4-Cloro-3-(trifluorometil)fenil]ureido}fenoxi)-N2-metilpiridino-2-carboxamida. Se ha producido una variedad de derivados de este compuesto. Entre estos se encuentran los
15 derivados fluorados descritos en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 2005/0038080A1 y el documento WO 2005/009961A2, concretamente en cuanto a estos y otros compuestos de difenilurea farmacéuticamente activos.

(5) *PTK/ZK*

- 20 *PTK787*, también conocido como vatalanib, es un inhibidor de tirosina quinasa multi-receptora de VEGF que se dice que bloquea la angiogénesis tumoral y la limfangiogénesis. Su estructura química es N-(4-clorofenil)-4-(piridin-4-ilmetil)ftalazin-1-amina. También es conocido como *PTK787/ZK*, *PTK787/ZK222584*, y *PTK/ZK*. Véase Thomas, A., et al., *J. of Clin. Oncology*, 23(18): 4162-4171 (2005); la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 20050118600A1.

(6) *Sutent*[®]

- 25 *Sutent*[®] es un inhibidor de tirosina quinasa receptora de molécula pequeña con la siguiente estructura química ([2-dietilaminoetil]amiduro de ácido 5-[5-fluoro-2-oxo-1,2-dihidroindol-(3Z)-ilidenometil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxílico). *Sutent*[®] también es conocido como malato de sunitinib y SU11248, y se ha informado de que tiene actividades anti-angiogénica y anti-tumoral. Véanse Mendel, D., et al., *Clinical Cancer Research*, 9:327-337 (2003); Schlessinger, J., *The Scientist*, 19(7):17 (2005).

30 *Combinaciones de inhibidores de Ang2 y VEGF*

La invención descrita hace referencia a una combinación de

(a) 2xCon4(C), y

- 35 (b) AMG 706 y sus sales farmacéuticamente aceptables; para su uso en el tratamiento de un tumor sólido en un sujeto. En particular con respecto a esto, la invención se refiere al uso combinado del inhibidor de Ang2 descrito en la sección anterior y en alguna otra parte en la presente memoria combinado con el inhibidor de VEGF descrito en la sección anterior y en alguna otra parte en la presente memoria.

Con respecto a esto, el inhibidor de Ang2 es 2xCon4(C) y el inhibidor de VEGF es AMG 706.

Indicaciones y Enfermedades

- 40 Se puede tratar una variedad de trastornos y enfermedades y similares de acuerdo con diversos aspectos y realizaciones de la invención. En particular, de acuerdo con algunos de sus aspectos y realizaciones preferidos, las composiciones, los métodos y otras características de la invención se utilizan para tratar enfermedades que implican un efecto perjudicial de o sobre la angiogénesis y/o la vascularización, incluyendo aquellos que requieren angiogénesis y/o vascularización, que son tumores sólidos.

- 45 Se pueden contemplar composiciones, métodos, kits y similares, entre otras cosas, útiles para tratar, por ejemplo, cánceres y otros estados proliferativos, tales como hiperplasia, psoriasis, dermatitis de contacto, trastornos inmunológicos e infertilidad, algunos de los cuales se han mencionado anteriormente.

La invención adicionalmente es útil en estos ámbitos y otros, proporcionando composiciones, como las descritas en la presente memoria para inhibir el crecimiento de tumores sólidos, incluyendo la inhibición de los procesos de proliferación celular, la invasividad, y la metástasis en un sujeto, incluyendo pacientes humanos.

- 50 Los tumores sólidos tratables por medio de los métodos de la presente invención incluyen aquellos que se producen en mamíferos, incluyendo aquellos que se producen en seres humanos y otros primates, así como mascotas o

animales de compañía tales como perros y gatos, animales de laboratorio tales como ratas, ratones y conejos, y animales de granja, tales como caballos, cerdos, ovejas, y ganado vacuno. En algunos de los aspectos particularmente preferidos de la invención y en realizaciones preferidas de la misma, son muy preferidos los seres humanos, concretamente, pacientes humanos que padecen una variedad de afecciones, tales como las que se muestran concretamente en la presente memoria.

Los tumores o neoplasmas incluyen crecimientos de células de tejidos en los que la multiplicación de las células es incontrolada y progresiva. Algunos de tales crecimientos son benignos, pero otros se denominan malignos y pueden conducir a la muerte. Los neoplasmas malignos o cánceres se distinguen de los crecimientos benignos en que, además de mostrar una proliferación celular agresiva, pueden invadir los tejidos circundantes y formar metástasis.

Por otra parte, los neoplasmas malignos se caracterizan por mostrar una mayor pérdida de diferenciación (mayor dediferenciación), y de su organización relativa entre sí y sus tejidos circundantes. Esta propiedad también se denomina "anaplasia".

Los neoplasmas y cánceres que son tumores sólidos cuya invasividad o metástasis están asociadas con la expresión o la actividad de Ang-2 y con la expresión o la actividad VEGF se encuentran particularmente entre las enfermedades a las cuales se puede aplicar ventajosamente la invención.

Los neoplasmas tratables por medio de la presente invención son aquellos que son tumores sólidos, esto es, carcinomas y sarcomas. Los carcinomas incluyen aquellos neoplasmas malignos derivados de células epiteliales que infiltran (invaden) los tejidos circundantes y dan lugar a metástasis. Los adenocarcinomas son carcinomas derivados de tejido glandular, o que forman estructuras glandulares reconocibles. Otra amplia categoría de cánceres a la cual se puede aplicar ventajosamente la invención incluye los sarcomas, que son tumores cuyas células están incluidas en una sustancia fibrilar u homogénea de tipo tejido conectivo embrionario.

Los tipos de células cancerosas y tumorales susceptibles de tratamiento de acuerdo con la invención incluyen, sin limitación, células de: tumores productores de ACTH, cáncer de corteza suprarrenal, cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer cervical, cáncer colorrectal, cáncer endometrial, cáncer esofágico, sarcoma de Ewing, cáncer de vesícula biliar, cáncer de cabeza y cuello, linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (de células pequeñas y no pequeñas), efusión peritoneal maligna, efusión pleural maligna, melanoma, neuroblastoma, glioma, osteosarcoma, cáncer de ovario, cáncer de ovario (células germinales), cáncer de páncreas, cáncer de pene, cáncer de próstata, retinoblastoma, cáncer de piel, sarcoma de tejido blando, carcinomas de células escamosas, cáncer de estómago, cáncer de testículo, cáncer de tiroides, neoplasmas trofoblásticos, cáncer de útero, cáncer de vagina, cáncer de vulva, y tumor de Wilms.

La presente invención proporciona de ese modo composiciones y métodos útiles para el tratamiento de una amplia variedad de cánceres, que son tumores sólidos.

Los tipos de cáncer que se pueden tratar incluyen, pero no están limitados a: adenocarcinoma de mama, próstata, y colon; todas las formas de carcinoma broncogénico del pulmón; mieloides; melanoma; hepatoma; neuroblastoma; papiloma; apudoma; coristoma; branquioma; síndrome carcinoide maligno; enfermedad cardíaca carcinoide; carcinoma (p. ej., de Walker, de células basales, basoescamoso, de Brown-Pearce, ductal, tumor de Ehrlich, de Krebs 2, de células de merkel, mucinoso, de pulmón de células no pequeñas, de células en avena, papilar, escurroso, bronquiolar, broncogénico, de células escamosas, y de células de transición); trastornos histiocíticos; histiocitosis maligna; enfermedad de Hodgkin; carcinoma inmunoproliferativo de células de pulmón pequeñas; reticuloendoteliosis; melanoma; condroblastoma; condroma; condrosarcoma; fibroma; fibrosarcoma; tumores de células gigantes; lipoma; liposarcoma; mixoma; mixosarcoma; osteoma; osteosarcoma; cordoma; craneofaringioma; disgerminoma; hamartoma; mesenquimoma; mesonefoma; miosarcoma; ameloblastoma; cementoma; odontoma; teratoma; timoma; tumor tofoblastic.

Adicionalmente, también se pueden tratar los siguientes tipos de cánceres: adenoma; colangioma; colesteatoma; ciclindroma; cistadenocarcinoma; cistadenoma; tumor de células granulosas; ginandroblastoma; hepatoma; hidradenoma; tumor de células de los islotes; tumor de células de Leydig; papiloma; tumor de células de Sertoli; tumor de células tecales; leiomioma; leiomiosarcoma; mioblastoma; mioma; miosarcoma; rbdomioma; rbdomiosarcoma; ependimoma; ganglioneuroma; glioma; meduloblastoma; meningioma; neurilemoma; neuroblastoma; neuroepitelioma; neurofibroma; neuroma; paraganglioma; paraganglioma no cromafínico; angioqueratoma; hiperplasia angioliñoide con eosinofilia; angioma esclerosante; angiomatosis; glomangioma; hemangioendotelioma; hemangioma; hemangiopericitoma; hemangiosarcoma; limfangioma; limfangiomioma; limfangiosarcoma; pinealoma; carcinosarcoma; condrosarcoma; cistosarcoma filodes; fibrosarcoma; hemangiosarcoma; leiomiosarcoma; leucosarcoma; liposarcoma; limfangiosarcoma; miosarcoma; mixosarcoma; carcinoma de ovario; rbdomiosarcoma; sarcoma; neoplasmas; nerofibromatosis; y displasia cervical.

55 Rutas de Administración

Los inhibidores de acuerdo con la invención, en diversas realizaciones, se pueden administrar por medio de una variedad de rutas adecuadas, bien conocidas por los expertos en la técnica de administración de agentes terapéuticos a un sujeto. En realizaciones de la invención a este respecto, se administran uno o más inhibidores, como se describe

en alguna parte de la presente memoria, a través del canal alimentario. En otras realizaciones se administran parenteralmente uno o más inhibidores como se describe en alguna parte de la presente memoria. En diversas realizaciones se pueden administrar uno o más inhibidores a través del canal alimentario junto con uno o más inhibidores distintos administrados parenteralmente.

- 5 Tales rutas en una variedad de realizaciones incluyen pero no están limitadas a la administración de las composiciones por la ruta oral, ocular, mucosal, tópica, rectal, pulmonar, por ejemplo mediante pulverización para inhalación, y por la epicutánea. Las siguientes rutas de administración parenterales también son útiles en diversas realizaciones de la invención: administración mediante inyección intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intraespinal, intratecal, intraósea, intraarticular, intrasinovial, intracutánea, intradérmica, subcutánea, peritoneal, y/o intramuscular.
- 10 En algunas realizaciones se utilizan inyecciones intravenosas, intraarteriales, intracutáneas, intradérmicas, subcutáneas y/o intramusculares. En algunas realizaciones utilizan inyecciones intravenosas, intraarteriales, intracutáneas, subcutáneas y/o intramusculares.

En ciertas realizaciones de la invención las composiciones se administran localmente, por ejemplo mediante inyección intraocular para tratar la neovascularización ocular, la retinopatía, o la degeneración macular relacionada con la edad.

15 Dosis

La cantidad de compuestos que se administran y el régimen de dosificación para el tratamiento de un estado de enfermedad con los compuestos y/o composiciones de esta invención dependen de una variedad de factores, incluyendo la edad, el peso, el sexo, y el estado médico del sujeto, el tipo de enfermedad, la gravedad de la enfermedad, la ruta y frecuencia de administración, y el compuesto concreto empleado. De este modo, el régimen de dosificación puede variar ampliamente.

La dosificación apropiada de los inhibidores de VEGF y de Ang2 que se va a utilizar en la combinación de acuerdo con la invención se puede determinar utilizando mecanismos bien conocidos empleados más generalmente en las técnicas farmacéuticas y relacionadas para determinar las dosificaciones de agentes individuales y/o combinaciones de otros agentes para usos terapéuticos.

Con respecto a esto, en ciertas realizaciones, la dosis de uno o ambos inhibidores para su uso en una combinación de acuerdo con la invención se puede basar parcial o totalmente en la dosis óptima establecida para uno o ambos de los inhibidores utilizados solos.

La dosis óptima para cada agente puede ser la dosis recomendada o establecida por la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos (concretamente en cuanto a las formulaciones para su uso en los Estados Unidos) y/o por otras autoridades que tienen jurisdicción sobre tales materias fuera de los Estados Unidos (concretamente en cuanto a las formulaciones para su uso fuera de los Estados Unidos), para el uso del agente por sí solo o en otras formulaciones combinadas.

Se debe entender que la dosis óptima en algunos casos es la dosis que logra el efecto terapéutico máximo, pero en otros casos puede ser superior o inferior.

Por ejemplo, la administración de cualquier agente a la dosis que logra en efecto terapéutico máximo, puede producir, al mismo tiempo, efectos secundarios inaceptables tales como toxicidad, de manera que la dosis óptima sea menor que la que tiene el efecto terapéutico máximo.

Por lo tanto, en algunas combinaciones de acuerdo con la invención, uno o ambos agentes estarán presentes a la dosis que logra el efecto terapéutico máximo cuando se utilizan solos y/o cuando se utilizan combinados. En otras combinaciones de acuerdo con la invención estarán presentes uno u otro o ambos agentes en la cantidad que logra el efecto terapéutico óptimo cuando el agente se utiliza por sí solo.

En otras realizaciones más uno o ambos agentes estarán presentes a una dosis que logre el efecto terapéutico óptimo para ese agente cuando se utiliza combinado, representando un equilibrio entre los efectos terapéuticos y los efectos secundarios no deseables tales como la toxicidad.

Se debe apreciar adicionalmente que entre las ventajas de las terapias combinadas de acuerdo con la invención, no solo está que en algunas realizaciones la combinación funciona mejor que cualquier agente individual por sí solo (a las mismas dosis) sino también que la combinación proporciona al menos el mismo efecto terapéutico o mejor que cualquier agente por sí solo, utilizando una dosis de uno o ambos agentes menor que la requerida para lograr el mismo efecto cuando se utiliza cualquier agente por sí solo. En realizaciones tales reducciones de las dosificaciones dan como resultado menos efectos secundarios y/o una reducción de la toxicidad.

Se aplican las mismas consideraciones cuando se utilizan más de dos agentes combinados entre sí, por ejemplo cuando se utilizan tres, cuatro, cinco o más agentes combinados.

De acuerdo con lo anterior, las dosis de los agentes que se van a utilizar combinados en realizaciones son las dosis

- recomendadas, establecidas, o prescritas por la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos o por una agencia de autoridad similar fuera de los Estados Unidos. En realizaciones, por otra parte, la dosis de un agente utilizado en una terapia combinada de acuerdo con la invención también puede ser menor, o mayor, que las dosis recomendadas, establecidas, o prescritas anteriormente mencionadas, tal como, en concreto, cuando el perfil terapéutico del agente en la terapia combinada es óptimo a tal dosis inferior o dosis superior.
- 5 En realizaciones a este respecto, la dosis de uno o más de los agentes en la terapia combinada es de 10%, 25%, 50%, 75%, 85%, 95%, 105%, 110%, 125% o más de las dosis recomendadas, establecidas, o prescritas por tal agencia para su uso del agente solo, concretamente en cuanto al uso del agente solo para la misma indicación.
- 10 En el caso de los agentes que se administran parenteralmente, por ejemplo por medio de inyección IV, en realizaciones de la invención la dosis del agente para la terapia combinada es de 0,05 mg/kg a 100 mg/kg. En realizaciones es de 0,01 a 50 mg/kg. En realizaciones es de 0,02 a 40 mg/kg. En realizaciones es de 0,3 a 30 mg/kg. En realizaciones es de 0,5 a 25 mg/kg. En realizaciones es de 1,0 a 15 mg/kg. Adicionalmente a este respecto, en realizaciones la dosis es una cualquiera o más de 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100 mg/kg o más. A este respecto las dosis se pueden administrar a cualquier intervalo, incluyendo pero no limitado a más de una vez al día, una vez al día, cada dos, tres, cuatro, cinco, seis o más días, una vez a la semana, cada una, dos, tres, o cuatro semanas, o a intervalos más largos.
- 15 Por ejemplo, en realizaciones a este respecto, las dosis de 2xCon4(C) en las terapias combinadas de acuerdo con la invención, además de las anteriores, son de 0,1 a 50 mg/kg IV una vez a la semana. En realizaciones las dosis don de 0,3 mg/kg a 30 mg/kg IV una vez a la semana. En realizaciones la dosis es de 3 mg/kg IV una vez a la semana. En realizaciones es de 5 mg/kg IV una vez a la semana. En realizaciones es de 10 mg/ml IV una vez a la semana. En realizaciones es de 15 mg/kg IV una vez a la semana.
- 20 Muchas de las mismas consideraciones que las descritas inmediatamente antes se aplican también a la dosis de un agente para la administración oral en una terapia combinada de acuerdo con la invención. Como se indica en alguna parte de la presente memoria, para la administración oral composición farmacéutica puede estar en forma de, por ejemplo, un comprimido, cápsula, suspensión, o líquido. La composición farmacéutica se elabora preferiblemente en forma de una unidad de dosificación que contiene una cantidad concreta de ingrediente activo.
- 25 Los ejemplos de tales unidades de dosificación son los comprimidos o las cápsulas. Los principios generales y los métodos para la formulación de los agentes para la administración oral son bien conocidos por los expertos en la técnica.
- 30 Las formulaciones de agentes para la administración oral en la terapia combinada de acuerdo con la invención en las realizaciones de la misma contienen el ingrediente activo en una cantidad de menos de 1 a 1.000, de 10 a 1.000, de 50 a 500, de 75 a 750 mg, entre otras. Por ejemplo, sin limitación, en realizaciones la cantidad es de 1, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1.000, o 2.000 mg por forma de dosificación.
- 35 En realizaciones el agente se administra en la terapia combinada de acuerdo con la invención a dosis de 0,01 o menos a 2.000 mg/kg o más. En realizaciones la dosis es de 1 a 1.000 mg/kg. En realizaciones es de 15 a 750 mg/kg. En realizaciones es de 25 a 700 mg/kg. En realizaciones es de 50 a 500 mg/kg. Por ejemplo, en realizaciones es de 1, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1.000, o 2.000 mg/kg.
- 40 En cuanto a las otras formas de administración, las dosis para la administración oral se pueden administrar una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete o más veces al día, o a intervalos de más de un día, tal como cada dos, tres, cuatro, cinco, seis, o siete días, o a intervalos más largos.
- 45 La administración oral de un agente en terapia combinada de acuerdo con la invención como se ha indicado anteriormente variará dependiendo de muchos factores, incluyendo el agente exacto, y la indicación y el estado inmediato del paciente, por nombrar solo unos pocos. Solo a modo de ilustración, teniendo en cuenta esta variabilidad, en realizaciones a este respecto, el agente se administra oralmente en una forma de dosificación que contiene, 1, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1.000, o 2.000 mg cada una. En realizaciones a este respecto, el agente se administra oralmente en una o más de las cantidades anteriores una, dos, tres, cuatro o más veces al día, o a intervalos más pequeños. En realizaciones a este respecto, se administran al mismo tiempo una, dos, tres, o cuatro unidades de dosificación.
- 50 En realizaciones que incluyen las realizaciones en las que la administración es parenteral, oral, o por medio de otros métodos, los intervalos de dosificación varían, por ejemplo entre dos, tres o más frecuencias de administración, o saltándose o añadiendo administraciones a intervalos establecidos o de acuerdo con la respuesta del paciente. En realizaciones, las dosis se alteran entre respuestas, por ejemplo una variación regular entre dos, tres, cuatro o más regímenes de dosificación, o de acuerdo con la respuesta del paciente.
- 55 Las consideraciones anteriores se aplican a los inhibidores tanto de Ang2 como de VEGF utilizados en la terapia combinada de acuerdo con la invención, entre otros.
- Los regímenes de dosificación se comentan con mayor detalle a continuación.

Regímenes de dosificación

5 Las composiciones se pueden administrar a dosificaciones y mediante mecanismos bien conocidos por los expertos en las técnicas médicas y veterinarias teniendo en cuenta factores tales como la edad, el sexo, el peso, y el estado del paciente concreto, y la formulación que se vaya a administrar (p. ej., sólida vs. líquida). Las dosis para los seres humanos u otros mamíferos pueden ser determinadas sin experimentación indebida por el experto en la técnica, a partir de esta descripción, los documentos citados en la presente memoria, y el conocimiento de la técnica.

10 De acuerdo con las diferentes realizaciones, las dosificaciones apropiadas y los planes de dosificación dependerán de numerosos factores, y pueden variar en diferentes circunstancias. Los parámetros que determinarán los planes de dosificación óptimos que se van a administrar incluirán típicamente algunos o todos de los siguientes: la enfermedad que se está tratando y su fase; la especie del sujeto, su estado de salud, género, edad, peso, y tasa metabólica; otras terapias que se estén administrando; y potenciales complicaciones esperadas del historial o el genotipo del sujeto.

15 El plan de dosificación óptimo en una situación dada también tendrá en cuenta el modo en el que se formulan las composiciones, el modo en el que se administran, su ruta de distribución después de la administración, y la tasa a la cual se aclararán tanto de los sitios de acción como del organismo del sujeto. Finalmente, la determinación de la dosificación óptima proporcionará necesariamente una dosis eficaz que ni está por debajo del umbral del efecto beneficioso máximo ni por encima del umbral en el que los efectos perjudiciales asociados con la dosis de los agentes activos supera las ventajas del incremento de la dosis.

20 Se apreciará que una "dosis" se puede liberar toda de una vez, de manera fraccionada, o de manera continua a lo largo de un período de tiempo. También se puede liberar la dosis completa en una única localización o distribuirla de manera fraccionada en diversas localizaciones. Además, las dosis pueden permanecer iguales a lo largo del tratamiento, o pueden variar.

25 En diversas realizaciones, las composiciones de la invención se administran a una dosis inicial, y después de eso se mantienen mediante administraciones adicionales. En algunas realizaciones una composición de la invención se administra mediante un método inicialmente, y después de eso se administra mediante el mismo método o mediante uno o más métodos diferentes. Las dosificaciones de las administraciones en marcha se pueden ajustar para mantener en ciertos valores los niveles de los agentes activos en el sujeto. En algunas realizaciones las composiciones se administran inicialmente y/o mantienen su nivel en el sujeto por medio de inyección intravenosa. En una variedad de realizaciones, se utilizan otras formas de administración, dependiendo del estado del paciente y de otros factores, comentados en alguna parte de la presente memoria.

30 Los regímenes adecuados para la administración inicial y las dosis adicionales para las administraciones sucesivas pueden ser todos iguales o pueden ser variables. Los regímenes apropiados pueden ser determinados por los expertos en la técnica, a partir de esta descripción, los documentos citados en la presente memoria, y el conocimiento de la técnica. La dosis, la frecuencia, y la duración del tratamiento dependerán de muchos factores, incluyendo la naturaleza de la enfermedad, el sujeto, y otras terapias que se puedan administrar.

35 Por lo tanto, se puede utilizar una amplia variedad de regímenes para administrar las composiciones. En algunas realizaciones éstas se administran a un sujeto a una dosis. En otras se administran a un sujeto en una serie de dos o más dosis sucesivas. En algunas otras realizaciones en las que se administran en una sola dosis, en dos dosis, y/o más de dos dosis, las dosis pueden ser iguales o diferentes, y se pueden administrar con intervalos iguales o intervalos diferentes entre ellas.

40 Las composiciones de la invención se pueden administrar en muchas frecuencias a lo largo de un amplio intervalo de tiempos, incluyendo cualquier frecuencia e intervalo de tiempos adecuados que liberen una dosis eficaz para el tratamiento. Las dosis se pueden liberar continuamente, se pueden administrar cada pocas horas, una o más veces al día, cada día, en días alternos o varias veces por semana, o menos frecuentemente. En algunas realizaciones se administran a lo largo de períodos de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, o más días. En algunas realizaciones se administran a lo largo de períodos de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce o más meses. En una variedad de realizaciones se administran durante un período de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o más años. Generalmente las duraciones del tratamiento serán proporcionales a la duración del proceso de enfermedad, la eficacia de las terapias que se estén aplicando, y el estado y la respuesta del sujeto que esté siendo tratado.

45 En diversas realizaciones de la invención, los inhibidores se administran de una a cuatro veces al día, en cantidades iguales, a intervalos iguales.

Formulaciones

50 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con diversas realizaciones de la invención pueden comprender uno o más portadores y/o diluyentes y/o coadyuvantes farmacéuticamente aceptables, no tóxicos (referidos colectivamente en la presente memoria como materiales "portadores") y, si se desea, otros ingredientes activos. Los compuestos farmacéuticamente activos de esta invención se pueden elaborar de acuerdo con métodos de farmacia

convencionales para producir agentes medicinales para su administración a pacientes humanos y a otros sujetos.

Las formulaciones para la administración de agentes biológicos tales como proteínas, incluyendo anticuerpos, son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, véanse los documentos US 6.171.586; WO 2005/044854; US 6.288.030; US 6.267.958; WO 2004/055164; US 4.597.966; US 2003/0138417; US 6.252.055; US 5.608.038; US 6.875.432; US 2004/0197324; WO 02/096457; US 5.945.098; US 5.237.054; US 6.485.932; US 6.821.515; US 5.792.838; US 5.654.403; US 5.908.826; EP 0 804 163; y WO 2005/063291, en particular en las partes que tienen que ver con la formulación, estabilización, y liberación de fármacos basados en proteínas. Como se ha descrito anteriormente y en otras partes, entre los agentes tamponadores preferidos para proteínas conocidos en la técnica se encuentran acetato, succinato, gluconato, glutamato, ácido glutámico, histidina, citrato, ácido aspártico, y otros tampones de ácidos orgánicos.

Para la administración oral, la composición farmacéutica puede estar en forma de, por ejemplo, un comprimido, una cápsula, una suspensión, o un líquido. La composición farmacéutica se elabora preferiblemente en forma de una unidad de dosificación que contiene una cantidad concreta del ingrediente activo. Los ejemplos de tales unidades de dosificación son los comprimidos o las cápsulas.

Para los fines terapéuticos, los compuestos activos de esta invención se combinan normalmente con uno o más coadyuvantes apropiados para la ruta de administración indicada. Si se administran por boca, los compuestos se pueden mezclar con lactosa, sacarosa, polvo de almidón, ésteres de celulosa de ácidos alcanoicos, ésteres de alquilcelulosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácidos fosfórico y sulfúrico, gelatina, goma de acacia, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, y/o poli(alcohol vinílico), y después comprimir o encapsular para la administración conveniente. Tales cápsulas o comprimidos pueden contener una formulación de liberación controlada puesto que se pueden proporcionar en una dispersión de compuesto activo en hidroxipropilmetilcelulosa.

Las formulaciones para la administración parenteral pueden estar en forma de soluciones o suspensiones inyectables estériles isotónicas acuosas o no acuosas. Estas soluciones y suspensiones se pueden preparar a partir de polvos o gránulos estériles utilizando uno o más de los portadores o diluyentes mencionados para su uso en las formulaciones para la administración oral o utilizando otros agentes dispersantes o humectantes y agentes suspensores adecuados. Los compuestos se pueden disolver en agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro de sodio, goma de tragacanto, y/o diversos tampones. Otros coadyuvantes y modos de administración son bien y ampliamente conocidos en la técnica farmacéutica. El ingrediente activo también se puede administrar por medio de inyectables en forma de una composición con portadores adecuados incluyendo solución salina, dextrosa, o agua, o con ciclodextrina (es decir, Captisol), solubilización con co-disolventes (es decir, propilenglicol), o solubilización micelar (es decir, Tween 80).

La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentran el agua, la solución de Ringer, y la solución isotónica de cloruro de sodio.

Además, se emplean convencionalmente aceites fijados, estériles como medio disolvente o suspensor. Para este fin se puede emplear cualquier aceite no volátil suave, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

Para la administración pulmonar, la composición farmacéutica se puede administrar en forma de un aerosol o con un inhalador incluyendo un aerosol de polvo seco.

Las composiciones farmacéuticas se pueden someter a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener coadyuvantes convencionales, tales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, tampones etc. También se pueden preparar adicionalmente comprimidos y píldoras con recubrimientos entéricos. Tales composiciones pueden comprender también coadyuvantes, tales como agentes humectantes, edulcorantes, aromatizantes, y perfumantes.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con lo anterior y otros aspectos de la invención pueden contener sustancias de formulación para modificar, mantener o conservar, por ejemplo, el pH, la osmolaridad, la viscosidad, la claridad, el color, la isotonicidad, el olor, la esterilidad, la estabilidad, la tasa de disolución o liberación, la adsorción o la penetración de la composición.

Las sustancias de formulación adecuadas incluyen, pero no están limitadas a, aminoácidos (tales como glicina, glutamina, asparragina, arginina o lisina); antimicrobianos; antioxidantes (tales como ácido ascórbico, sulfito de sodio o hidrogenosulfito de sodio); tampones (tales como borato, bicarbonato, Tris-HCl, citratos, fosfatos, otros ácidos orgánicos); agentes volumétricos (tales como manitol o glicina), agentes quelantes [tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)]; agentes complejantes (tales como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina o hidroxipropil-beta-ciclodextrina); cargas; monosacáridos; disacáridos y otros carbohidratos (tales como glucosa, manosa, o dextrinas); proteínas (tales como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas); colorantes; agentes

aromatizantes y diluyentes; agentes emulsionantes; polímeros hidrófilos (tales como polivinilpirrolidona); polipéptidos de bajo peso molecular; contraiones formadores de sales (tales como sodio); conservantes (tales como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol fenetílico, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sórbico o peróxido de hidrógeno); disolventes (tales como glicerina, propilenglicol o polietilenglicol); alcoholes de azúcares (tales como manitol o sorbitol); agentes suspensores; tensioactivos o agentes humectantes (tales como pluronics, PEG, ésteres de sorbitán, polisorbatos tales como polisorbato 20, polisorbato 80, tritón, trometamina, lecitina, colesterol, tiloxapal); agentes potenciadores de la estabilidad (sacarosa o sorbitol); agentes potenciadores de la tonicidad (tales como haluros de metales alcalinos (preferiblemente cloruro de sodio o potasio, manitol, sorbitol); vehículos de liberación; diluyentes; excipientes y/o coadyuvantes farmacéuticos. (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a Edición, A.R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990).

La composición farmacéutica óptima será determinada por un experto en la técnica dependiendo, por ejemplo, de la ruta de administración pretendida, el formato de liberación, y la dosificación deseada. Véase por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, supra. Tales composiciones pueden influir en el estado físico, la estabilidad, la tasa de liberación in vivo, y la tasa de aclaramiento in vivo del agente aglutinante específico.

El vehículo o portador primario en una composición farmacéutica puede ser de naturaleza acuosa o no acuosa. Por ejemplo, un vehículo o portador adecuado puede ser agua para inyectables, solución salina fisiológica o fluido cerebroespinal artificial, posiblemente con un suplemento de otras sustancias comunes en las composiciones para la administración parenteral. La solución salina tamponada neutra o la solución salina mezclada con albúmina de suero son portadores ilustrativos adicionales. Otras composiciones farmacéuticas ilustrativas comprenden tampón Tris de pH 7,0-8,5, o tampón de acetato de pH 4,0-5,5, que pueden incluir adicionalmente sorbitol o un sustituto adecuado del mismo. En una realización de la presente invención, se pueden preparar composiciones de agentes aglutinantes para el almacenamiento mezclando la composición seleccionada que tiene el grado de pureza deseado con agentes de formulación opcionales (Remington's Pharmaceutical Sciences, supra) en forma de una torta liofilizada o una disolución acuosa. Adicionalmente, el agente aglutinante producto se puede formular en forma de un producto liofilizado utilizando excipientes apropiados tales como sacarosa.

Las composiciones farmacéuticas se pueden seleccionar para su liberación parenteral. Alternativamente, las composiciones se pueden seleccionar para su inhalación o para su liberación entérica por ejemplo oralmente, auralmente, oftálmicamente, rectalmente, o vaginalmente. La preparación de tales composiciones farmacéuticamente aceptables se encuentra dentro del conocimiento práctico de la técnica.

Los componentes de formulación están presentes en concentraciones apropiadas para el sitio de administración. Por ejemplo, los tampones se utilizan para mantener la composición a pH fisiológico o a un pH ligeramente inferior, típicamente dentro de un intervalo de pH de 5 a 8.

Cuando se contempla la administración parenteral, las composiciones terapéuticas para su uso en esta invención pueden estar en forma de una disolución acuosa parenteralmente aceptable, libre de pirógenos que comprende el agente aglutinante específico deseado en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo concretamente adecuado para su inyección parenteral es agua destilada estéril en la que se formula un agente aglutinante en forma de una disolución isotónica, estéril, conservada apropiadamente.

Otra preparación más puede implicar la formulación de la molécula deseada con un agente, tal como microesferas inyectables, partículas bio-erosionables, compuestos poliméricos (poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), cuentas, o liposomas, que proporcionan la liberación controlada o sostenida del producto que se puede liberar después a través de una inyección de depósito. También se puede utilizar ácido hialurónico, y éste puede tener el efecto de promover la duración sostenida en la circulación. Otros medios adecuados para la introducción de la molécula deseada incluyen dispositivos de liberación de fármacos implantables.

En otros aspectos, las formulaciones farmacéuticas adecuadas para la administración parenteral se pueden formular en disoluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer, o solución salina tamponada fisiológicamente. Las suspensiones inyectables acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol, o dextrano. Adicionalmente, se pueden preparar suspensiones de los compuestos activos en forma de suspensiones inyectables oleosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen ácidos grasos, tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo, triglicéridos, o liposomas. También se pueden utilizar para la liberación polímeros de aminas policatiónicas no lipídicos. Opcionalmente, la suspensión puede contener también estabilizadores adecuados o agentes para aumentar la solubilidad de los compuestos y permitir la preparación disoluciones altamente concentradas.

Una composición farmacéutica de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención puede ser adecuada para su inhalación. Por ejemplo, un agente aglutinante se puede formular en forma de un polvo seco para su inhalación. Las soluciones para inhalación de moléculas de polipéptido o ácido nucleico también se pueden formular con un propelente para su liberación en aerosol. En otra realización más, las soluciones se pueden nebulizar. La administración pulmonar se describe adicionalmente en la Solicitud PCT Núm. PCT/US94/001875, que describe la liberación pulmonar de proteínas modificadas químicamente.

5 También se contempla que ciertas formulaciones se puedan administrar oralmente. En una realización de la presente invención, las moléculas de agente aglutinante que se administran de esta manera se pueden formular con o sin estos portadores utilizados habitualmente en la composición de formas de dosificación sólidas tales como comprimidos y cápsulas. Por ejemplo, se puede diseñar una cápsula para liberar la porción activa de la formulación en el punto del tracto gastrointestinal en el que se maximiza la biodisponibilidad y se minimiza la degradación presistémica. Se pueden incluir agentes adicionales para facilitar la absorción de la molécula del agente aglutinante. También se pueden emplear diluyentes, aromatizantes, ceras de bajo punto de fusión, aceites vegetales, lubricantes, agentes suspensores, agentes disgregantes de comprimidos, y aglutinantes.

10 Las composiciones farmacéuticas para la administración oral se pueden formular también utilizando portadores farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica en dosificaciones adecuadas para la administración oral. Tales portadores posibilitan que las composiciones farmacéuticas sean formuladas en forma de comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, emulsiones, suspensiones, y similares, para su ingestión por el paciente.

15 Las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener combinando compuestos activos con un excipiente sólido y elaborando la mezcla resultante de gránulos (opcionalmente, después de su trituración) para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Se pueden añadir agentes auxiliares adecuados, si se desea. Los excipientes adecuados incluyen cargas de carbohidratos o proteínas, tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol, y sorbitol; almidón de maíz, trigo, arroz, patata, u otras plantas; celulosa, tales como metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, o carboximetilcelulosa sódica; gomas, incluyendo goma arábica y tragacanto; y proteínas, tales como gelatina y colágeno. Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes o solubilizantes, tales como polivinilpirrolidona entrecruzada, agar, y ácido alginico o una de sus sales, tales como alginato de sodio.

25 También se pueden utilizar núcleos para grageas junto con recubrimientos adecuados, tales como soluciones de azúcares concentrados, que también pueden contener goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, soluciones de laca, y disolventes orgánicos adecuados o mezclas disolventes. Se pueden añadir colorantes o pigmentos a los comprimidos o revestimientos de grageas para la identificación del producto o para caracterizar la cantidad del compuesto activo, es decir, la dosificación.

30 Las preparaciones farmacéuticas que se pueden utilizar oralmente también incluyen cápsulas de ajuste a presión elaboradas de gelatina, así como cápsulas selladas, blandas elaboradas de gelatina y un recubrimiento, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste a presión pueden contener ingredientes activos mezclados con cargas o aglutinantes, tales como lactosa o almidones, lubricantes, tales como talco o estearato de magnesio, y, opcionalmente, estabilizadores. En las cápsulas blandas, los compuestos activos se pueden disolver o suspender en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, líquidos, o polietilenglicol líquido con o sin estabilizadores.

35 Otra composición farmacéutica puede implicar una cantidad eficaz de agente aglutinante en una mezcla con excipientes no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Por medio de la disolución de los comprimidos en agua estéril, u otro vehículo apropiado, se pueden preparar disoluciones en una forma de dosificación unitaria. Los excipientes adecuados incluyen, pero no están limitados a, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato o bicarbonato de sodio, lactosa, o fosfato de calcio; o agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina, o acacia; o agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, o talco.

40 Las composiciones farmacéuticas adicionales resultarán evidentes para los expertos en la técnica, incluyendo formulaciones que implican moléculas de agente aglutinante en formulaciones de liberación sostenida o controlada. Las técnicas para formular una variedad de otros medios de liberación sostenida o controlada, tales como portadores de liposomas, micropartículas bioerosionables o cuentas porosas e inyecciones de depósito, también son conocidas por los expertos en la técnica. Véase por ejemplo, el documento PCT/US93/00829 que describe micropartículas poliméricas porosas de liberación controlada para la liberación de las composiciones farmacéuticas.

45 Los ejemplos adicionales de las preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices poliméricas semipermeables en forma de artículos moldeados, p. ej. películas, o microcápsulas. Las matrices de liberación sostenida pueden incluir poliésteres, hidrogeles, polilactidas (Documento US 3.773.919, Documento EP 58.481), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato [Sidman et al., Biopolimers, 22:547-556 (1983)], poli(metacrilato de 2-hidroxietilo) [Langer et al., J. Biomed. Mater. Res., 15:167-277, (1981)] y [Langer et al., Chem. Tech., 12:98-105(1982)], acetato de etilvinilo (Langer et al., supra) o ácido poli-D(-)-3-hidroxi-butírico (documento EP 133.988). Las composiciones de liberación sostenida también incluyen liposomas, que se pueden preparar por medio de cualquiera de varios métodos conocidos en la técnica. Véanse p. ej., Eppstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 82:3688-3692 (1985); el documento EP 36.676; el documento EP 88.046; el documento EP 143.949.

55 La composición farmacéutica que se va a utilizar para la administración *in vivo* debe ser típicamente estéril. Esto se puede lograr mediante filtración a través de membranas de filtración estériles. Cuando la composición se liofiliza, la esterilización utilizando este método se puede llevar a cabo antes o después de la liofilización y la reconstitución.

La composición para la administración parenteral se puede almacenar en forma liofilizada o en disolución. Además,

las composiciones parenterales generalmente se colocan en un recipiente que tiene un puerto de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa o vial de disolución intravenosa que tiene un tapón perforable por medio de una aguja de inyección hipodérmica.

5 El término "sales farmacéuticamente aceptables" abarca sales utilizadas comúnmente para formar sales de metales alcalinos y para formar sales de adición de ácidos libres o de bases libres. La naturaleza de la sal no es crítica, siempre que sea farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los compuestos se pueden preparar a partir de un ácido inorgánico o a partir de un ácido orgánico. Los ejemplos de tales ácidos inorgánicos son ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Los ácidos orgánicos apropiados se pueden seleccionar entre las clases de ácidos orgánicos alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, arilalifáticos, heterocíclicos, carboxílicos y sulfónicos, ejemplos de los cuales son ácido fórmico, acético, 10 adipico, butírico, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, mesílico, 4-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, etanodisulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, 2-hidroxietanosulfónico, toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, canfórico, canforsulfónico, 15 diglucónico, ciclopentanopropiónico, dodecilsulfónico, glucoheptanoico, glicerofosfónico, heptanoico, hexanoico, 2-hidroxietanosulfónico, nicotínico, 2-naftalenosulfónico, oxálico, palmoico, pectínico, persulfúrico, 2-fenilpropiónico, pícrico, piválico, propiónico, succínico, tartárico, tiocianico, mesílico, undecanoico, esteárico, algénico, (β -hidroxibutírico, salicílico, galactárico y galacturónico. Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos incluyen sales metálicas, tales como sales elaboradas a partir de aluminio, calcio, 20 litio, magnesio, potasio, sodio y cinc, o sales elaboradas a partir de bases orgánicas incluyendo aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas cíclicas, tales como cafeína, arginina, dietilamina, N-etilpiperidina, histidina, glucamina, isopropilamina, lisina, morfolina, N-etilmorfolina, piperazina, piperidina, trietilamina, trimetilamina. Todas estas sales se pueden preparar por medio de métodos convencionales a partir del compuesto de la invención correspondiente haciendo reaccionar, por ejemplo, el ácido o la base apropiados con el 25 compuesto.

Una vez que se ha formulado la composición farmacéutica, ésta se puede almacenar en viales estériles en forma de una disolución, suspensión, gel, emulsión, sólido, o un polvo deshidratado o liofilizado. Tales formulaciones se pueden almacenar en una forma lista para su uso o en una forma (p. ej., liofilizada) que requiere su reconstitución antes de la administración.

30 Kits

La invención también proporciona kits que comprenden uno o más inhibidores de Ang2 y uno o más inhibidores de VEGF de acuerdo con lo anterior. Los inhibidores se pueden disponer en los kits en uno o más recipientes. Cada uno de tales recipientes puede contener de manera separada o mezclados uno o más inhibidores de Ang2 y uno o más inhibidores de VEGF de acuerdo con cualquiera de los anteriores. Típicamente, tales kits se diseñan para uso 35 médico, y los inhibidores están incluidos en formulaciones farmacéuticamente aceptables. Entre los kits a este respecto se encuentran aquellos que comprenden 2xCon4(C) y AMG 706. Asimismo a este respecto se encuentran los kits en donde los inhibidores se disponen en recipientes separados. Los kits pueden ser aquellos que comprenden enteramente esto o como uno o más documentos separados, información relativa al contenido o al kit y al uso de los inhibidores. Asimismo los kits pueden ser aquellos en donde las composiciones se formulan para su 40 reconstitución en un diluyente. Los kits pueden comprender adicionalmente uno o más recipientes de diluyente estéril. Se pueden contemplar los kits en donde al menos uno de los inhibidores se dispone en viales con vacío parcial sellados con un septo y adecuados para su reconstitución para formar una formulación eficaz para su administración parenteral.

45 Se pueden contemplar los kits que proporcionan el empaquetamiento en dosis sencillas de uno o más de los inhibidores, y los kits que incluyen aquellos que proporcionan jeringas precargadas de una sola cámara y multi-cámara (p. ej., jeringas líquidas y liojeringas) para la administración de uno o más de los inhibidores, y los kits en los que las jeringas están precargadas.

La presente invención se describe adicionalmente por medio de los siguientes ejemplos ilustrativos, no limitantes.

Ejemplos

50 Ejemplo comparativo 1: Tek472/Fc y Avastina™

Los xenoinjertos de células Colo205 inyectadas en ratones CD 1 Nu/Nu hembra se trataron con: (1) Avastina™ (grupo 1); (2) Avastina™ y Tek472/Fc (grupo 2); (3) control de HulgG1 y Fc (grupo 3), y (4) Tek472/Fc (grupo 4), como se describe con mayor detalle más abajo.

55 Los tumores fueron inducidos inyectando células Colo205 en cuarenta ratones hembra CD1 Nu/Nu, de 6 a 8 semanas de edad, con un peso de entre 20 y 22 gramos. Todos los ratones se obtuvieron de Charles River Laboratories (Raleigh, NC, Núm. APR 245658). Las células Colo205 para su inyección se cultivaron en suspensión a 37°C en medio de McCoy 5A (GibcoBRL, Grand Island, NY) con un suplemento de FBS al 10% (Hyclone, Logan, Utah). Para su inyección, las células se recogieron del cultivo y se mezclaron con Matrigel™ (BD Bioscience,

Bedford, MA, Núm. de Cat. 354234) a una concentración de 1×10^7 células/ml. Se inyectaron 0,2 ml de la mezcla que contenía células-Matrigel™ que contenía 2×10^6 células Colo205 en el flanco derecho de cada ratón subcutáneamente. Los ratones fueron después asignados al azar a los grupos de control y tratamiento (resumido en la Tabla 1A), se marcaron, y se pesaron.

5 Dos veces cada semana, a lo largo del estudio, se midió la longitud, la altura, y la anchura de cada tumor, y los ratones se pesaron. Los volúmenes tumorales se calcularon a partir de las mediciones de las dimensiones (longitud x anchura x altura) y se expresaron uniformemente en mm^3 .

Antes de su uso, las preparaciones de Tek472/Fc, Fc, HulgG1, y Avastina™ se diluyeron en PBS a una concentración de 1 mg/ml (0,1%). Se administraron dosis de 100 μl ip o sc. Las cantidades de tratamiento y las rutas de administración se exponen en la Tabla 1A para todos los grupos.

10

Tabla 1A

Núm. de grupo	Núm. de ratones	Tratamiento 1	Frecuencia	Tratamiento 2	Frecuencia
1	10	Avastina™ 100 μg ip	2x/semana	Fc 40 μg sc	3x/semana
2	10	Avastina™ 100 μg ip	2x/semana	Tek 472/Fc 40 μg sc	3x/semana
3	10	HulgG1 100 μg ip	2x/semana	Fc 40 μg sc	3x/semana
4	10	HulgG1 100 μg ip	2x/semana	Tek 472/Fc 40 μg sc	3x/semana

Todos los tratamientos comenzaron 21 días después de que las células fueran inyectadas a los ratones, cuando los volúmenes tumorales fueron de aproximadamente 450 mm^3 .

15 Se utilizó un procedimiento doble ciego a lo largo del estudio, con lo que las personas que midieron los volúmenes tumorales y administraron los fármacos no estuvieron al tanto del tratamiento.

Todos los resultados se expresan como la media \pm error típico de la media ("ETM"). Los datos se analizaron estadísticamente con un ANOVA factorial para mediciones repetidas, utilizando soporte lógico StatView v5.0.1 (SAS Institute, Cary, NC). Se utilizó una prueba post hoc de Scheffe para determinar los valores de p para las mediciones repetidas. Se consideró que los grupos de comparación con valores de p de 0,05 o menos eran significativamente diferentes.

20

Los resultados se presentan gráficamente en la Figura 1, que muestra los volúmenes tumorales (media \pm ETM) para cada uno de los cuatro grupos en el curso del estudio. El tratamiento con Avastina™ sola (Grupo 1) o Tek472/Fc solo (Grupo 4) inhibió significativamente el crecimiento tumoral cuando se comparó con el tratamiento con el control por sí solo (Grupo 3): $p < 0,0001$ para la Avastina™ y $p = 0,0175$ para Tek472/Fc. El tratamiento con Tek472/Fc y Avastina™ (Grupo 2) fue significativamente más eficaz que el tratamiento con el control (Grupo 3): $p < 0,0001$. También fue significativamente más eficaz, $p < 0,0001$, que el tratamiento con Tek472/Fc solo (Grupo 1). Sin embargo, el tratamiento con la Avastina™ por sí sola fue tan eficaz como el tratamiento con Tek472/Fc y Avastina™.

25

Los pesos medios de los animales para cada grupo no difirieron de una manera estadísticamente significativa en el curso del estudio.

30 En resumen, según se midió por medio del volumen tumoral, cada agente solo y la combinación inhibieron significativamente el crecimiento tumoral en comparación con el control. El grupo combinado fue estadísticamente superior al tratamiento con Tek472/Fc solo ($p < 0,0001$) pero no con la Avastina™ sola.

Ejemplo comparativo 2: Anti-Ang2 (Ab 536) y Anti-VEGF

Los xenoinjertos de células A431 inyectadas en ratones hembra CD1 Nu/Nu se trataron con: (1) IgG1 humana de control (kappa); (2) anticuerpo anti-Ang2 (Ab 536); (3) anticuerpo anti-VEGF; y (4) anticuerpo anti-VEGF y anticuerpo anti-Ang2 (Ab 536), como se presenta con mayor detalle en las Tablas 2A y 2B y en la discusión de más abajo.

35

Tabla 2A

Número de grupo	Número de ratones	Tratamiento
1	10	IgG1 humana de control (kappa)
2	10	anti-Ang2 (Ab 536)
3	10	anti-VGF + IgG1 de control (kappa)
4	10	anti-VGF + anti-Ang2 (Ab 536)

Tabla 2B

	Anti-Ang2 AB 536	IgG1 Humana Kappa	Anti-VEGF
Proveedor	n/a	Sigma	R & D
Vehículo	PBS	PBS	PBS
Dosis	Primera dosis 140 µg, a continuación 46,7 µg cada dosis	Primera dosis 140 µg, a continuación 46,7 µg cada dosis	Primera dosis 15,5 µg, a continuación 5,18 µg cada dosis
Ruta	IP	IP	IP
Programa	3 x semana	3 x semana	3 x semana
Ratones	CD1 Nu/Nu, Hembra, Charles River Laboratories		

Las células A431 se cultivaron en matraces T-225. Después de 40 pases, las células para el estudio se cultivaron hasta que fueron confluentes en 80-85% y a continuación se cosecharon utilizando tripsina/EDTA. Las células cosechadas se suspendieron en medio RPMI 1740 a una concentración de 5×10^7 células/ml. Más de 95% de las células de la preparación utilizadas para este estudio fueron viables según se determinó por medio de exclusión con azul de tripan.

Los tumores fueron inducidos inyectando 1×10^7 células A431 suspendidas en 0,2 ml de medio sin suero subcutáneamente en el flanco derecho de los 40 ratones hembra CD 1 Nu/Nu, de 6 a 8 semanas de edad, con un peso entre 20 y 22 gramos.

Antes de su uso, los anticuerpo anti-Ang2, HulG1, y anti-VEGF se diluyeron en PBS. Todos los tratamientos se iniciaron tres días después de inyectar las células, antes de que los tumores fueran palpables.

Para comenzar el tratamiento a los ratones de cada grupo se les inyectó una dosis inicial que fue tres veces mayor que las dosis subsiguiente en el estudio. Los grupos, la dosis inicial, y las dosis de continuación se exponen con detalle en las Tablas 2A y 2B.

Los tumores se midieron y los ratones se pesaron a lo largo del estudio como se describe en el Ejemplo 1.

Los resultados se expresan y los datos se analizaron como se describe en el Ejemplo 1.

Los datos del estudio se presentan en la Figura 2.

El gráfico en la Figura 2 presenta el volumen de tumor medio para cada uno del grupo 1 (control), grupo 2 (anticuerpo anti-Ang2, Ab 536), grupo 3 (anticuerpo anti-VEGF), y grupo 4 (ambos anticuerpos), en el curso del estudio. Las barras verticales representan \pm ETM. Los valores de p indicados se refieren a las comparaciones con el control (IgG1) (grupo 1) basándose en los volúmenes tumorales como una función del tiempo utilizando el ANOVA de medidas repetidas con la prueba post hoc de Scheffe.

Los pesos de los animales se midieron en el curso del estudio. Todos los grupos mantuvieron sus pesos, y por medio de esta medición, no hubo evidencia de que ninguno de los tratamientos fuera significativamente perjudicial para el estado general de los animales.

Como se muestra en la Figura 2, el tratamiento con el anticuerpo anti-Ang2 (Ab 536) solo (grupo 2) y el anticuerpo anti-VEGF solo (grupo 3) inhibió el crecimiento de los xenoinjertos significativamente más que el tratamiento de control (grupo 1): $p = 0,0012$ y $p = 0,0004$, respectivamente. El tratamiento con ambos anticuerpos juntos también efectuó una inhibición estadísticamente significativa del crecimiento tumoral, con respecto al control, $p < 0,0001$. Sin embargo, el tratamiento con ambos anticuerpos no fue significativamente más eficaz que el tratamiento con uno cualquiera por sí solo.

Ejemplo 3: Xenoinjertos de HT29 con 2xCon4(C) y AMG 706

Los xenoinjertos de células HT29 inyectados a ratones carentes de sistema inmune atímicos hembra se trataron con 2xCon4(C) solo, AMG 706 solo, o una combinación de los dos, como se describe más abajo.

Los tumores fueron inducidos inyectando células HT29 subcutáneamente a 90 ratones carentes de sistema inmune atímicos hembra, de 6 a 8 semanas de edad, con un peso entre 21 y 23 gramos. Todos los ratones se obtuvieron de Harlan Sprague Dawley. Las células HT29 para su inyección se cultivaron en suspensión a 37°C en medio de McCoy 5A1 (Gibco/BRL, Grand Island, NY) con un suplemento de FBS al 10% (Hyclone, Logan, Utah). Después de 26 pases, las células para el estudio se cultivaron hasta que fueron semiconfluentes (aproximadamente 40%) y a continuación se recogieron utilizando tripsina/EDTA. Las células se mezclaron con Matrigel™ (BD Bioscience, Bedford, MA, Núm. de Cat. 354234) a una razón de 2:1 a una concentración de 1×10^7 células/ml. Más de 95% de

las células fueron viables según se determinó por medio de exclusión con azul de tripán. Se inyectaron 0,2 ml de la mezcla de células-Matrigel™ que contenía 2×10^6 células HT29 en el flanco derecho de cada ratón subcutáneamente.

5 Veintiún días después de la inyección, se seleccionaron 40 de los 90 ratones para el estudio mediante un ordenador utilizando aleatorización por ordenador y programas de clasificación, y se inició el tratamiento.

Dos veces cada semana, a lo largo del estudio, se midió la longitud, la altura, y la anchura de cada tumor y los ratones se pesaron. Los volúmenes tumorales se calcularon a partir de las mediciones dimensionales longitud x anchura x altura y se expresaron uniformemente en mm^3 .

10 Antes de su uso, se diluyeron cada uno de 2xCon4(C) y el control de Fc a la concentración de trabajo (dosis/0,1 ml) en PBS. Se diluyó AMG 706 a la concentración de trabajo con Ora-Plus ajustado con ácido metanosulfónico a pH 2,0 (dosis/0,2 ml). Todos los compuestos se almacenaron a 4°C.

El régimen de tratamiento para cada grupo de ratones se expone en la Tabla 3A.

15 El tratamiento comenzó el día 21 después de la implantación del tumor. Los grupos se trataron con: (1) control de vehículo y Fc (grupo 1), (2) AMG 706 y Fc (grupo 3), (3) 2xCon4(C) más vehículo (grupo 2), y (4) AMG 706 y 2xCon4(C) (grupo 4). 2xCon4(C) se proporcionó a 14 μg /dosis, subcutáneamente, dos veces por semana (grupo 2). AMG 706 se proporcionó oralmente a la dosis de 75 mg/kg QD (grupo 3). La misma dosis y programa de dosificación se utilizaron para el tratamiento combinado de 2xCon4(C) y AMG 706 (grupo 4). El vehículo sirvió como control para AMG 706. Fc sirvió como control para 2xCon4(C). El grupo 1 se trató solo con los dos controles.

Tabla 3A

Núm. de grupo	Núms. de ratón	Tratamiento 1	Tratamiento 2
1	1-10	Vehículo, po QD	FC, 14 μg , sc, 2x/semana
2	11-20	Vehículo, po QD	2xCon4(C), 14 μg , sc, 2x/semana
3	21-30	AMG 706, 75 mg/kg, po, QD	FC, 14 μg , sc, 2x/semana
4	31-40	AMG 706, 75 mg/kg, po, QD	2xCon4(C), 14 μg , sc, 2x/semana

20 Los resultados se expresan y los datos se analizaron como se describe en el Ejemplo 1.

Los datos se presentan en la Figura 3.

25 El gráfico de la Figura 3 presenta el volumen de tumor medio para cada uno del grupo 1 (control), grupo 2 (2xCon4(C)), grupo 3 (AMG 706), y grupo 4 (2xCon4(C) y AMG 706) en el curso del estudio. Las barras verticales representan \pm ETM. Según se indica mediante una flecha vertical gruesa, el tratamiento comenzó el día 21 post-implantación y finalizó el día 41.

Los pesos de los animales se midieron en el curso del estudio. Los pesos corporales permanecieron relativamente estables para todos los grupos. Mediante esta medición, ninguno de los tratamientos fue sustancialmente perjudicial o tóxico.

30 Según se mide por medio del volumen del tumor y se representa en la Figura 3, los tres grupos de tratamiento, en comparación con el control, tuvieron un efecto inhibitor estadísticamente significativo sobre el crecimiento tumoral: $p < 0,0001$ (grupos 3 y 4), y $p = 0,0078$ (grupo 2). Además, según se mide mediante el volumen del tumor y se representa en la Figura 3, el tratamiento combinado (grupo 4) fue significativamente más eficaz que el tratamiento con 2xCon4(C) por sí solo (grupo 2), $p = 0,0385$, o AMG 706 por sí solo (grupo 3), $p < 0,0001$.

Ejemplo 4: 2xCon4(C) y 4TBPPAPC

35 Como se describe más abajo, los xenoinjertos de células Colo205 inyectadas a ratones hembra CD1 Nu/Nu se trataron con: (1) vehículo de control, (2) 4TBPPAPC (dosis baja), (3) 2xCon4(C) (dosis baja), (4) 4TBPPAPC (dosis alta), (5) 2xCon4(C) (dosis alta), (6) 4TBPPAPC y 2xCon4(C) (ambos a dosis bajas), (7) 4TBPPAPC (dosis baja) y 2xCon4(C) (dosis alta), (8) 4TBPPAPC (dosis alta) y 2xCon4(C) (dosis baja), y (9) 4TBPPAPC y 2xCon4(C) (ambos a dosis altas).

40 Los tumores fueron inducidos inyectando células Colo205 subcutáneamente a 120 ratones hembra CD1 Nu/Nu, 8-10 semanas de edad, con un peso entre 22 y 25 gramos. Todos los ratones se obtuvieron de Charles River Laboratories (Raleigh, NC). Las células Colo205 (pase Núm. Xp9) para su inyección se cultivaron en matraces de cultivo T-225 hasta que fueron confluentes en 70%. Las células se cosecharon para su inyección utilizando

tripsina/EDTA. Las células fueron viables >95% mediante exclusión con azul de tripán. Las células se resuspendieron en medio sin suero que contenía 1/3 de volumen de Matrigel™ a 1×10^7 células/ml. Se inyectaron 0,2 ml de mezcla de células-Matrigel™ que contenía 2×10^6 células Colo205 subcutáneamente en el flanco derecho de cada ratón.

- 5 Veintiún días después de la inyección, cuando los volúmenes tumorales fueron aproximadamente 500 mm^3 , se seleccionaron 90 de los 120 ratones para el estudio por medio de aleatorización y clasificación computarizada, y el tratamiento se inició el mismo día sobre estos ratones. Había 10 ratones en cada grupo. Dos veces cada semana a lo largo del estudio, se midió la longitud, la altura, y la anchura de cada tumor, y los ratones se pesaron comenzando el día post-implantación. Los volúmenes tumorales se calcularon a partir de las mediciones dimensionales en forma de longitud x anchura x altura, y se expresaron uniformemente en mm^3 .

Antes de su uso, 2xCon4(C) se diluyó a una concentración de trabajo (dosis/0,1 ml) en PBS. 4TBPPAPC se diluyó a una concentración de trabajo (dosis/0,2 ml) en Ora-Plus ajustado con ácido metanosulfónico a pH 2,0.

El tratamiento comenzó el día 21 después de la implantación del tumor. Los regímenes de dosificación se detallan en las Tablas 4A y 4B.

15 Tabla 4A

Grupo	Tratamiento
1 Vehículo (0,2 ml, po, qd)	+ Vehículo (0,1 ml, sc, 2/semana)
2 4TBPPAPC 30 mg/kg (0,2 ml, po, qd)	+ Vehículo (0,1 ml, sc, 2/semana)
3 2xCon4(C) 2,8 μg (0,1 ml, sc, 2/semana)	+ Vehículo (0,2 ml, po, qd)
4 4TBPPAPC 100 mg/kg (0,2 ml, po, qd)	+ Vehículo (0,1 ml, sc, 2/semana)
5 2xCon4(C) 14 μg (0,1 ml, sc, 2/semana)	+ Vehículo (0,2 ml, po, qd)
6 4TBPPAPC 30 mg/kg (0,2 ml, po, qd) 2	+ 2xCon4(C) 2,8 μg (0,1 ml, sc, 2/semana)
7 4TBPPAPC 30 mg/kg (0,2 ml, po, qd)	+ 2xCon4(C) 14 μg (0,1 ml, sc, 2/semana)
8 4TBPPAPC 100 mg/kg (0,2 ml, po, qd)	+ 2xCon4(C) 2,8 μg (0,1 ml, sc, 2/semana)
9 4TBPPAPC 100 mg/kg (0,2 ml, po, qd)	+ 2xCon4(C) 14 μg (0,1 ml, sc, 2/semana)

Tabla 4B

	Dosis óptima	Dosis subóptima
2xCon4(C)	14 μg /ratón, 2/semana, sc	2,8 μg /ratón, 2/semana, sc
4TBPPAPC	100 mg/kg, qd, oral	30 mg/kg, qd, oral

Los resultados se expresan y los datos se analizaron como se describe en el Ejemplo 1.

Los datos se presentan en las Figuras 4A a 4D. En todas las figuras los datos específicos son los valores medios del grupo y las barras verticales representan + ETM.

- 20 El gráfico en la Figura 4A muestra los volúmenes tumorales medios para los ratones tratados con el vehículo de control (grupo 1), 4TBPPAPC (dosis baja) (grupo 2), 2xCon4(C) (dosis baja) (grupo 3), y tanto 4TBPPAPC (dosis baja) como 2xCon4(C) (dosis baja) (grupo 6).

- 25 El gráfico en la Figura 4B muestra los volúmenes tumorales medios para los ratones tratados con el vehículo de control (grupo 1), 4TBPPAPC (dosis baja) (grupo 2), 2xCon4(C) (dosis alta) (grupo 5), y tanto 4TBPPAPC (dosis baja) como 2xCon4(C) (dosis alta) (grupo 7).

El gráfico en la Figura 4C muestra los volúmenes tumorales medios para los ratones tratados con el vehículo de control (grupo 1), 2xCon4(C) (dosis baja) (grupo 3), 4TBPPAPC (dosis alta) (grupo 4), y tanto 4TBPPAPC (dosis alta) como 2xCon4(C) (dosis baja) (grupo 8).

- 30 El gráfico en la Figura 4D muestra los volúmenes tumorales medios para los ratones tratados con el vehículo de control (grupo 1), 4TBPPAPC (dosis alta) (grupo 4), 2xCon4(C) (dosis alta) (grupo 5), y tanto 4TBPPAPC (dosis alta) como 2xCon4(C) (dosis alta) (grupo 9).

Todos los grupos tratados con un solo agente o una combinación de agentes experimentaron una reducción significativa en el crecimiento tumoral en comparación con el control de vehículo ($p < 0,0001$ para todos los grupos de tratamiento en comparación con el grupo de control con vehículo).

- 35 La combinación de ambos agentes a dosis subóptimas fue significativamente más eficaz que las dosis subóptimas

de cualquier agente solo: $p = 0,01$ para la combinación en comparación con 4TBPPAPC, y $p = 0,0026$ para la combinación en comparación con 2xCon4(C).

5 El grupo tratado con una dosis óptima de 2xCon4(C) combinada con una dosis subóptima de 4TBPPAPC experimentó una reducción significativamente mayor del volumen del tumor que el grupo tratado con 4TBPPAPC solo ($p < 0,0001$). Sin embargo, este tratamiento combinado no fue significativamente más eficaz que el tratamiento con la dosis óptima de 2xCon4(C) solo.

El tratamiento con una dosis subóptima de 2xCon4(C) combinada con una dosis óptima de 4TBPPAPC fue significativamente más eficaz que el tratamiento con una dosis subóptima de 2xCon4(C) ($p < 0,0001$). Sin embargo, esta combinación no fue significativamente diferente que el tratamiento con la dosis óptima de 4TBPPAPC.

10 El tratamiento con una dosis óptima de 2xCon4(C) combinada con una dosis óptima de 4TBPPAPC fue significativamente más eficaz que el tratamiento con una dosis óptima de 2xCon4(C) ($p = 0,0216$). Sin embargo, el tratamiento combinado no fue significativamente más eficaz que el tratamiento con una dosis óptima de 4TBPPAPC ($p = 0,0527$). Este valor de p está inmediatamente por encima del umbral de significación de 0,05.

Ejemplo 5: Xenoinjertos de Colo205 con 2xCon4(C) y AMG 706

15 Los xenoinjertos de células Colo205 inyectadas a ratones carentes de sistema inmune atímicos hembra se trataron con 2xCon4(C) solo, AMG 706 solo, o una combinación de los dos como se describe más abajo. Los tumores fueron inducidos inyectando células Colo205 subcutáneamente a ratones carentes de sistema inmune atímicos hembra (CD1 Nu/Nu), 8-10 semanas de edad. Todos los ratones se obtuvieron de Charles River Laboratories (Raleigh, NC). Las células Colo205 para su inyección se cultivaron en matraces de cultivo T-225. Las células se cosecharon a partir de cultivos subconfluentes utilizando tripsina/EDTA. Las células fueron viables en más de 95% mediante exclusión con azul de tripsina. Las células se suspendieron en Matrigel™ al 33% en RPMI (sin FBS y PSG) a 10×10^6 células/ml. Se inyectaron 2×10^6 células en 0,2 ml subcutáneamente en el flanco derecho de cada ratón.

25 El día 17 después de la inyección los tumores promediaron 200 mm^3 , y los ratones se dividieron al azar en cuatro grupos de 10 ratones cada uno. El grupo 1 recibió AMG a una dosis de 24,4 mg/kg y control de fragmento Fc a una dosis de 2,8 μg . El grupo 2 recibió 2xCon4(C) a una dosis de 2,8 μg y el vehículo acuoso a pH 2. El grupo 3 recibió AMG 706 a una dosis de 24,4 mg/kg y 2xCon4(C) a 2,8 μg . El grupo 4 recibió vehículo acuoso a pH 2 más control de fragmento Fc a 2,8 μg y sirvió como control negativo. Los grupos de control de 2xCon4(C) y fragmento Fc recibieron administración subcutáneamente dos veces a la semana. Los grupos de AMG 706 y vehículo acuoso RH 2 recibieron administración oralmente dos veces al día, excepto los días 25 y 26.

30 El experimento se realizó "ciego" de acuerdo con The Cancer Pharmacology Blinded Study Guidelines. Los tumores se midieron y los pesos corporales se determinaron dos veces cada semana. Los tumores se midieron con un calibre digital electrónico. Los volúmenes tumorales se calcularon en forma de mediciones de longitud x anchura x altura y se expresaron en mm^3 .

35 Los datos se analizaron mediante ANOVA de medidas repetidas para los volúmenes tumorales a lo largo del tiempo utilizando STATVIEW v. 5.0.1. Se utilizó la prueba post-hoc de Scheffe para determinar los valores de p para las medidas repetidas desde el día 17 al día 37 en los cuatro grupos, y también del día 17 al día 48 para los grupos 1, 2, y 3.

40 El tratamiento con 2xCon4(C) combinado con AMG 706 (grupo 3) inhibió significativamente el crecimiento tumoral en comparación con AMG 706 (grupo 1) o 2xCon4(C) (grupo 2) ($p < 0,05$ el día 37). Además, 2xCon4(C) combinado con AMG 706 y el grupo con un solo agente, 2xCon4(C), inhibió significativamente el crecimiento tumoral en comparación con el grupo de control el día 37 ($p < 0,05$). La administración de AMG 706 y 2xCon4(C) juntos (grupo 3) aumentó significativamente la inhibición del tumor en comparación con cualquier agente por sí solo ($p < 0,0005$ el día 48). El curso del tiempo para el tamaño del tumor para los cuatro grupos se muestra en la Figura 5.

No se observó efecto sobre el peso corporal de ninguno de los grupos.

45 Ejemplo comparativo 6: 2xCon4(C) (2,8 μg) y Avastina™ (30 μg)

Los xenoinjertos de células Colo205 inyectadas a ratones carentes de sistema inmune atímicos hembra se trataron con 2xCon4(C) solo, Avastina™, o una combinación de los dos como se describe más abajo.

50 Los tumores fueron inducidos inyectando células Colo205 subcutáneamente a ratones carentes de sistema inmune atímicos hembra (CD1 Nu/Nu), 8-10 semanas de edad. Todos los ratones se obtuvieron de Charles River Laboratories (Raleigh, NC). Las células Colo205 para su inyección se cultivaron en matraces de cultivo T-225. Las células se cosecharon a partir de cultivos subconfluentes utilizando tripsina/EDTA. Las células fueron viables en más de 95% mediante exclusión con azul de tripsina. Las células se resuspendieron en Matrigel™ al 33% en RPMI (sin FBS ni PSG) a 10×10^6 /ml. Se inyectaron 2×10^6 células en 0,2 ml subcutáneamente en el flanco derecho de cada ratón.

El día 16 después de la inyección los tumores promediaron 300 mm³, y los ratones se dividieron al azar en cuatro grupos de 10 ratones cada uno. El grupo 1 recibió IgG1 a una dosis de 30 µg y control de fragmento Fc a una dosis de 2,8 µg y sirvió como control negativo. El grupo 2 recibió Avastina™ a una dosis de 30 µg y control de fragmento Fc a 2,8 µg. El grupo 3 recibió 2xCon4(C) a una dosis de 2,8 µg e IgG1 humana a una dosis de 30 µg. El grupo 4 recibió 2xCon4(C) a una dosis de 2,8 µg y Avastina™ a 30 µg. Todos los ratones que recibieron 2xCon4(C) y el control de fragmento Fc recibieron administración subcutáneamente dos veces por semana. Todos los ratones que recibieron Avastina™ y la IgG1 humana recibieron administración IP dos veces por semana.

El experimento se realizó "ciego" de acuerdo con The Cancer Pharmacology Blinded Study Guidelines. Los tumores se midieron y los pesos corporales se determinaron dos veces cada semana. Los tumores se midieron con un calibre digital electrónico. Los volúmenes tumorales se calcularon en forma de mediciones de longitud x anchura x altura y se expresaron en mm³.

Los datos se analizaron por medio de ANOVA de medidas repetidas para los volúmenes tumorales a lo largo del tiempo utilizando STATVIEW v. 5.0.1. El utilizó la prueba post-hoc de Scheffe para determinar los valores de p para las medidas repetidas desde el día 16 al día 51 para todos los grupos.

El tratamiento con Avastina™ sola (grupo 2) exhibió una inhibición significativa del tumor en comparación con el control (grupo 1) (p<0,001). El tratamiento con 2xCon4(C) solo produjo 24% de inhibición del crecimiento tumoral que no fue significativa estadísticamente en comparación con el control. El tratamiento con 2xCon4(C) y Avastina™ juntos produjo una inhibición significativa del tumor en comparación con el control (p<0,0001) y en comparación con tratamiento con 2xCon4(C) solo (p<0,0001). El tratamiento con 2xCon4(C) y Avastina™ juntos exhibieron inhibición del crecimiento tumoral ligeramente mayor que con Avastina™ sola, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa. El curso del tiempo del tamaño del tumor para todos los grupos se muestra en la Figura 6.

No se observó efecto sobre el peso corporal de ninguno de los grupos.

Ejemplo comparativo 7: 2xCon4(C) (2,8 µg) y Avastina™ (10 µg)

Los xenoinjertos de células Colo205 inyectados a ratones carentes de sistema inmune atímicos hembra se trataron con 2xCon4(C) solo, Avastina™, o una combinación de los dos como se describe más abajo.

Los tumores fueron inducidos inyectando células Colo205 subcutáneamente a ratones carentes de sistema inmune atímicos hembra (CD 1 Nu/Nu), 8-10 semanas de edad. Todos los ratones se obtuvieron de Charles River Laboratories (Raleigh, NC). Las células se cosecharon a partir de cultivos subconfluentes utilizando tripsina/EDTA. Las células fueron viables en más de 95% por medio de exclusión con azul de tripsina. Se inyectaron 2 x 10⁶ células en 0,2 ml subcutáneamente en el flanco derecho de cada ratón.

El día 14 después de la inyección los tumores promediaron 250 mm³, y los ratones se dividieron al azar en cuatro grupos de 10 ratones cada uno. El grupo 1 recibió IgG1 a una dosis de 10 µg y control de fragmento Fc a una dosis de 2,8 µg y sirvió como control negativo. El grupo 2 recibió Avastina™ a una dosis de 10 µg y control de fragmento Fc a 2,8 µg. El grupo 3 recibió 2xCon4(C) a una dosis de 2,8 µg e IgG1 humana a una dosis de 10 µg. El grupo 4 recibió 2xCon4(C) a una dosis de 2,8 µg y Avastina™ a 10 µg. Todos los ratones que recibieron 2xCon4(C) y el control de fragmento Fc recibieron administración subcutáneamente dos veces por semana. Todos los ratones que recibieron Avastina™ y e IgG1 humana recibieron administración IP dos veces por semana.

El experimento se realizó "ciego" de acuerdo con The Cancer Pharmacology Blinded Study Guidelines. Los tumores se midieron y los pesos corporales se determinaron dos veces cada semana. Los tumores se midieron con un calibre electrónico digital. Los volúmenes tumorales se calcularon en forma de mediciones de longitud x anchura x altura y se expresaron en mm³.

Los datos se analizaron por medio de ANOVA de medidas múltiples para los volúmenes tumorales a lo largo del tiempo utilizando STATVIEW v. 5.0.1. Se utilizó la prueba post-hoc de Scheffe para determinar los valores de p desde el día 14 al día 42 para todos los grupos.

El tratamiento con Avastina™ sola exhibió una reducción de 18% en el crecimiento tumoral en comparación con el control. El tratamiento con 2xCon4(C) solo produjo una inhibición de 22% del crecimiento tumoral. El tratamiento con 2xCon4(C) y Avastina™ juntos produjo una inhibición significativa del tumor en comparación con el control (p<0,0001) y en comparación con tratamiento con 2xCon4(C) solo o Avastina™ sola (p<0,0001 para ambos). El curso del tiempo para el tamaño del tumor para todos los grupos se muestra en la Figura 7.

No se observó efecto sobre el peso corporal de ninguno de los grupos.

A partir de la descripción anterior, un experto en la técnica puede determinar fácilmente las características esenciales de esta invención, y sin apartarse del espíritu y el alcance de la misma, puede realizar diversos cambios y modificaciones de la invención para adaptarla a diversos usos y condiciones.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación de
 - (a) 2xCon4(C), y
 - (b) AMG706 y sus sales farmacéuticamente aceptables; para su uso en el tratamiento de un tumor sólido en un sujeto.
2. Formulaciones farmacéuticamente aceptables de 2xCon4(C), combinado con AMG706 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1.
3. 2xCon4(C) y AMG706 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el tumor sólido es un adenocarcinoma.
4. 2xCon4(C) y AMG706 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el sujeto es un ser humano.
5. 2xCon4(C) y AMG706 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde (a) y (b) se administran en momentos diferentes, sucesivamente.
6. 2xCon4(C) y AMG706 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde (a) y (b) se administran al mismo tiempo.
7. 2xCon4(C) y AMG706 para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el adenocarcinoma es cáncer de colon.
8. 2xCon4(C) y AMG706 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde AMG706 se administra a una dosis de 25 a 125 mg una vez al día.

20

FIGURA 1

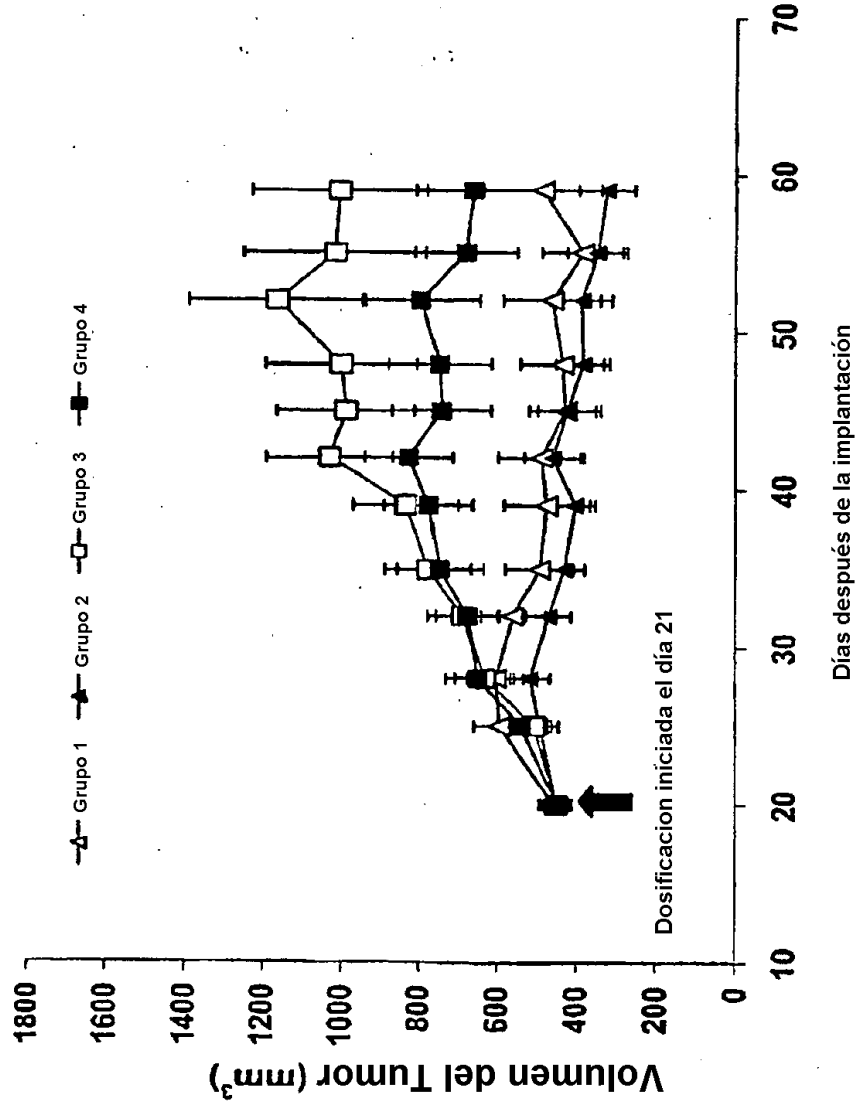


FIGURA 2

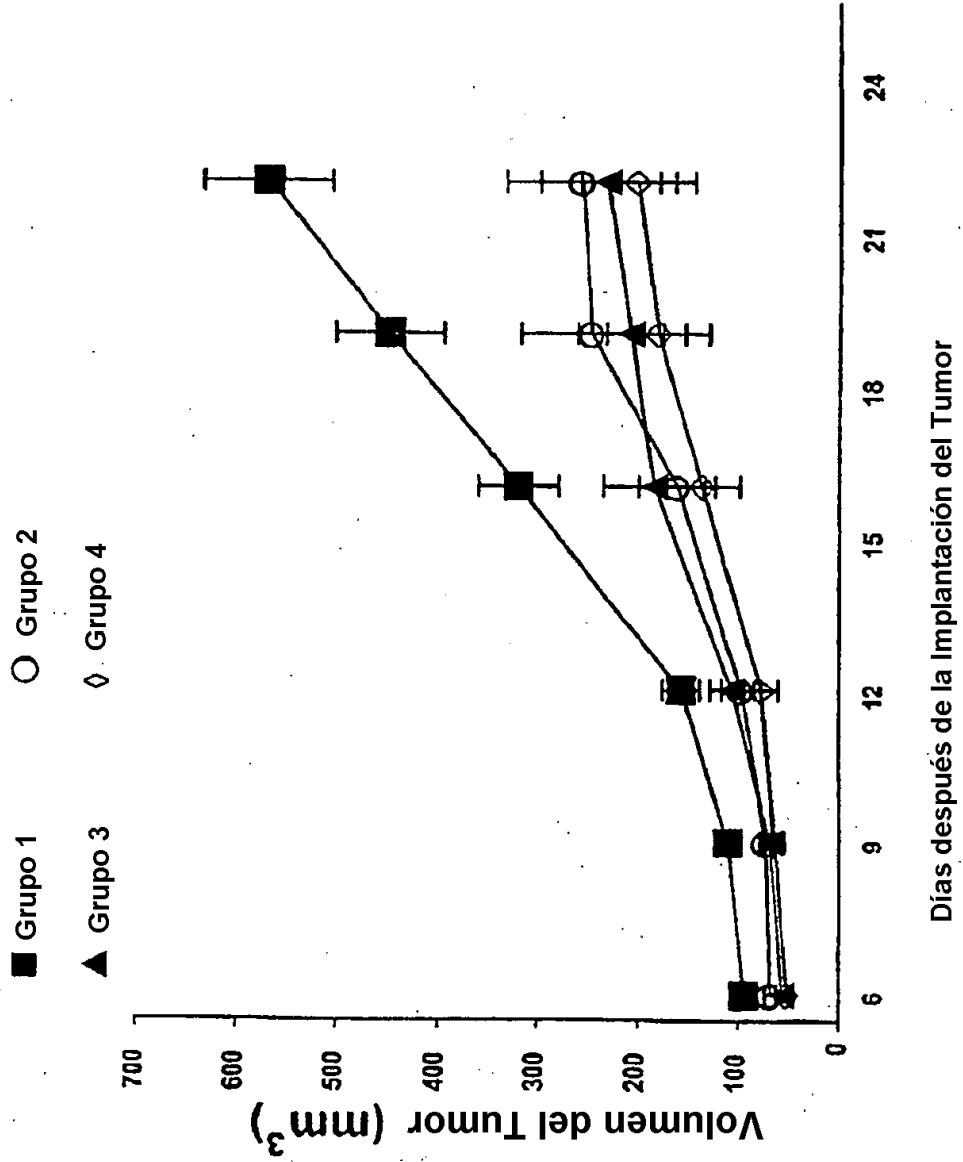


FIGURA 3

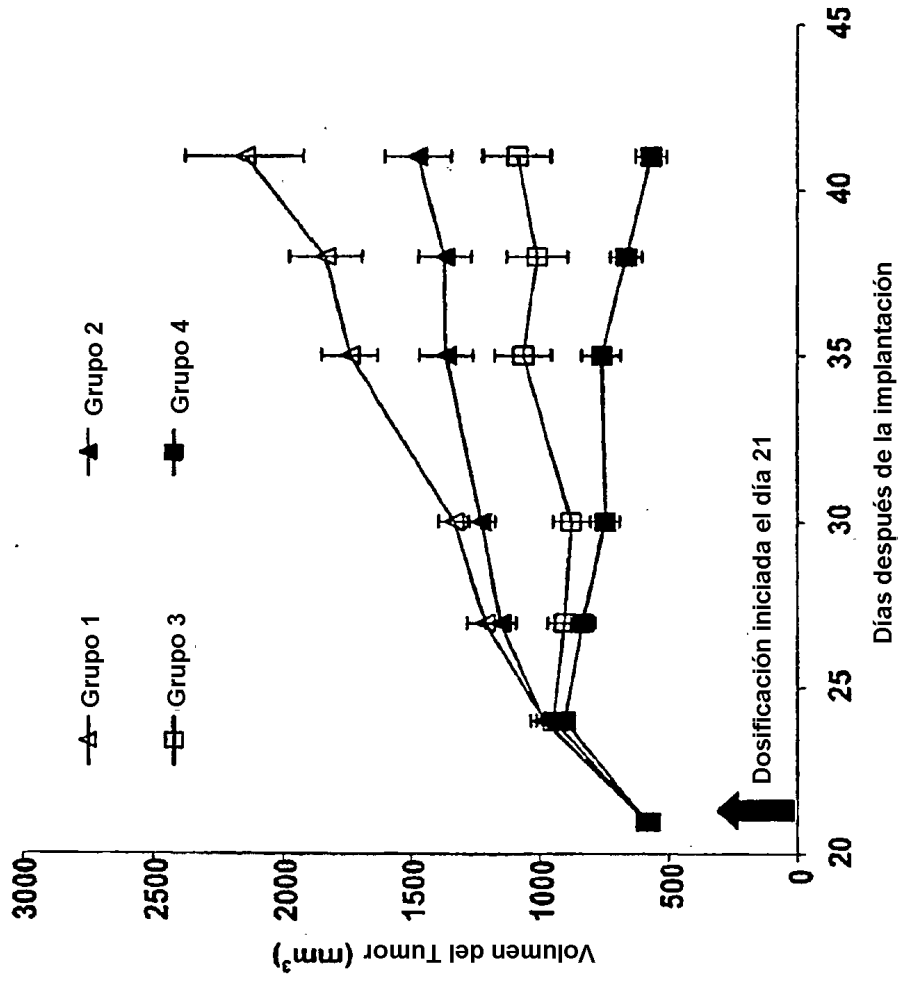


FIGURA 4A

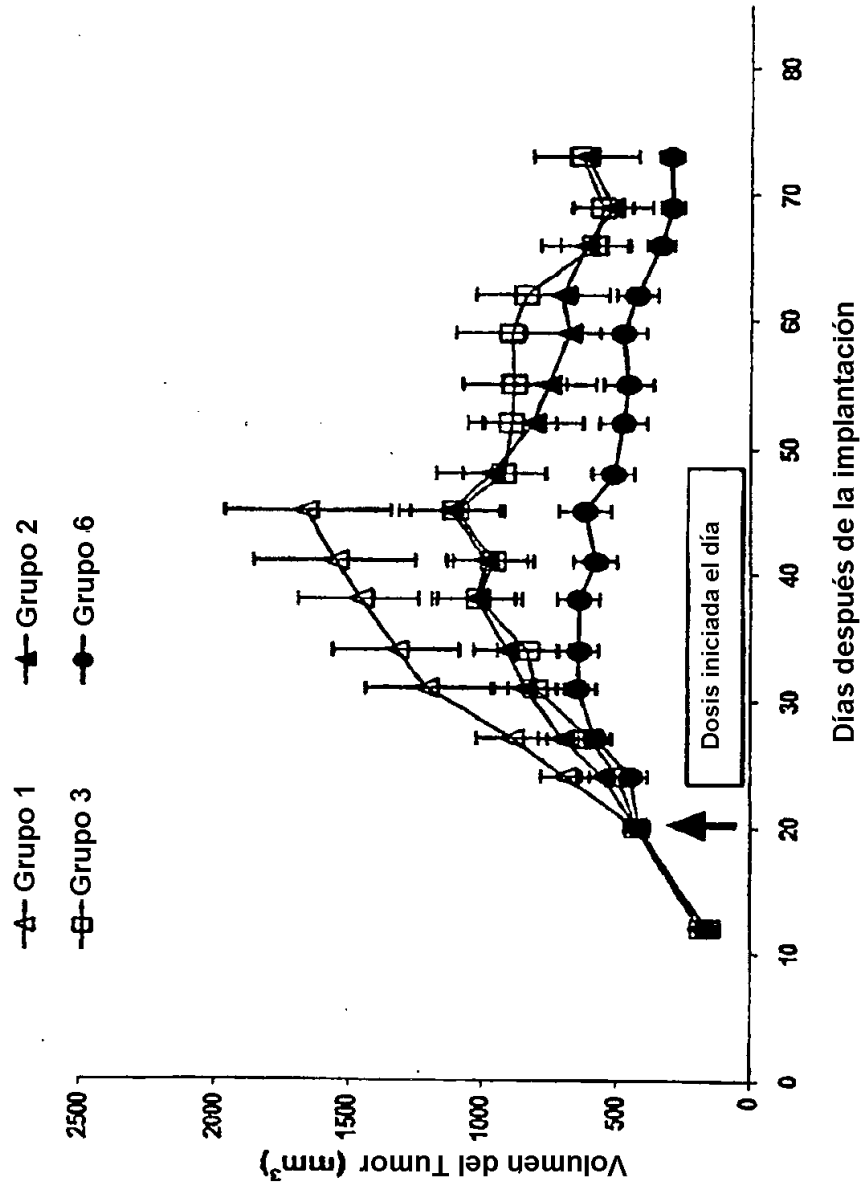


FIGURA 4B

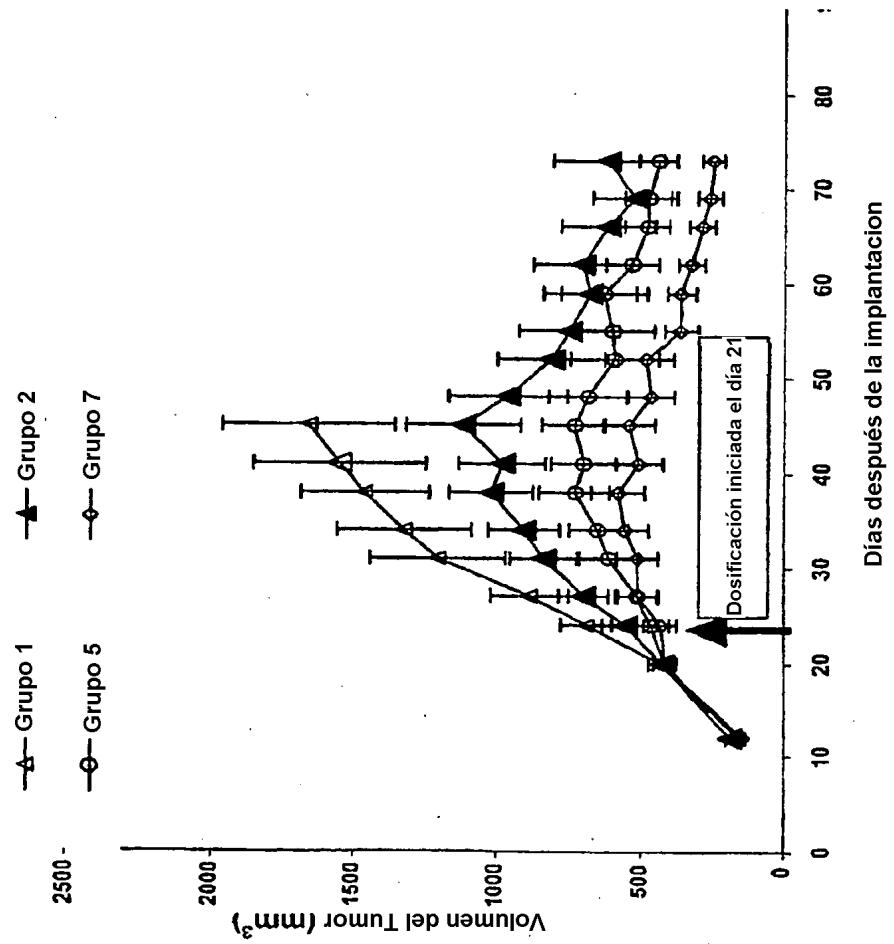


FIGURA 4C

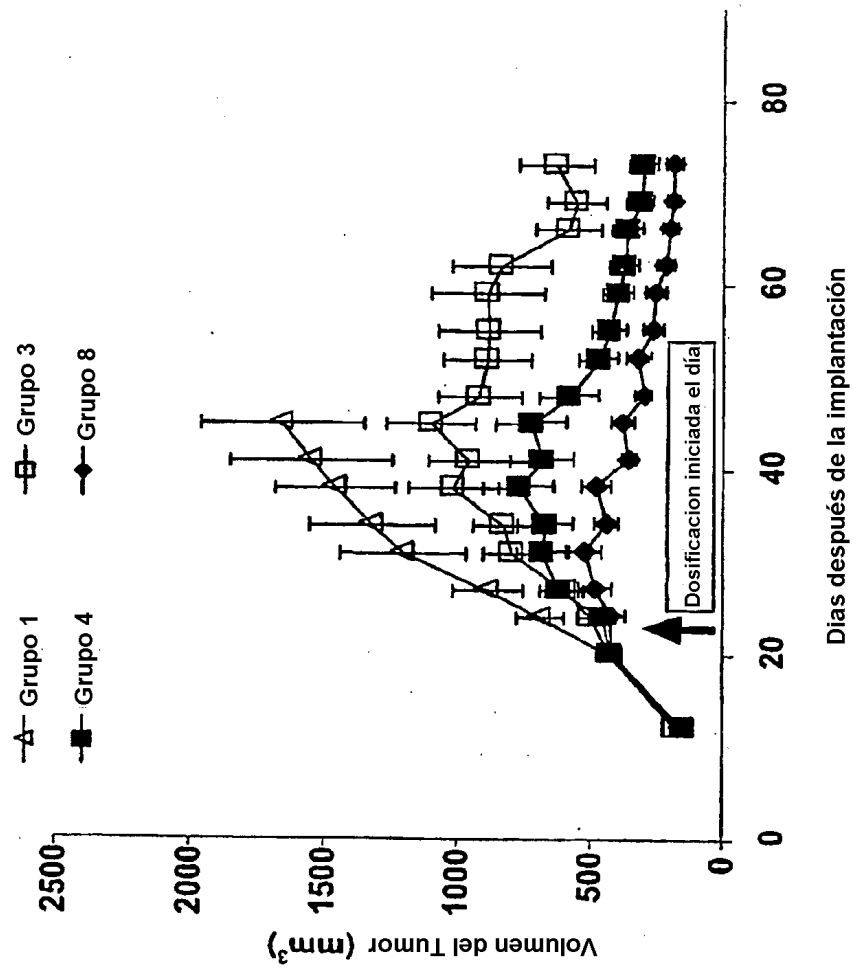


FIGURA 4D

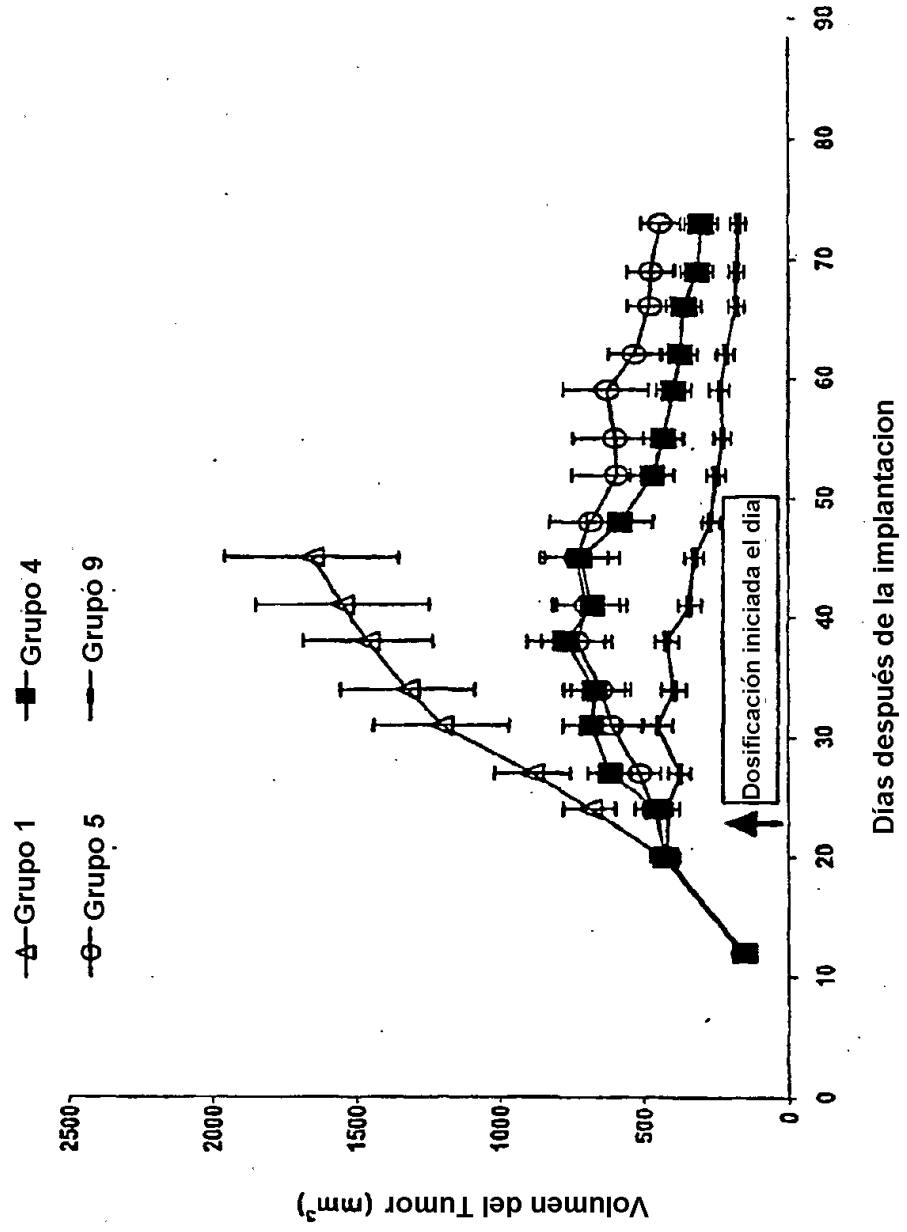


FIGURA 5

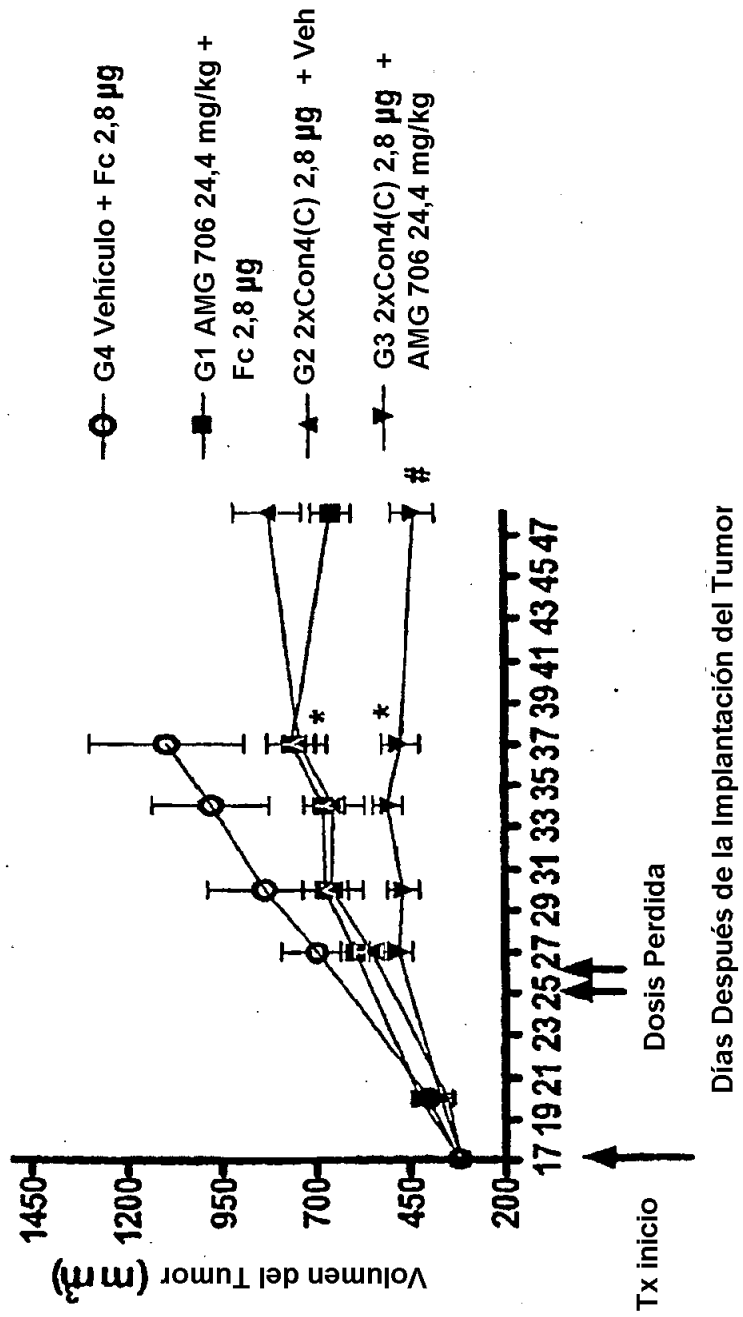


FIGURA 6

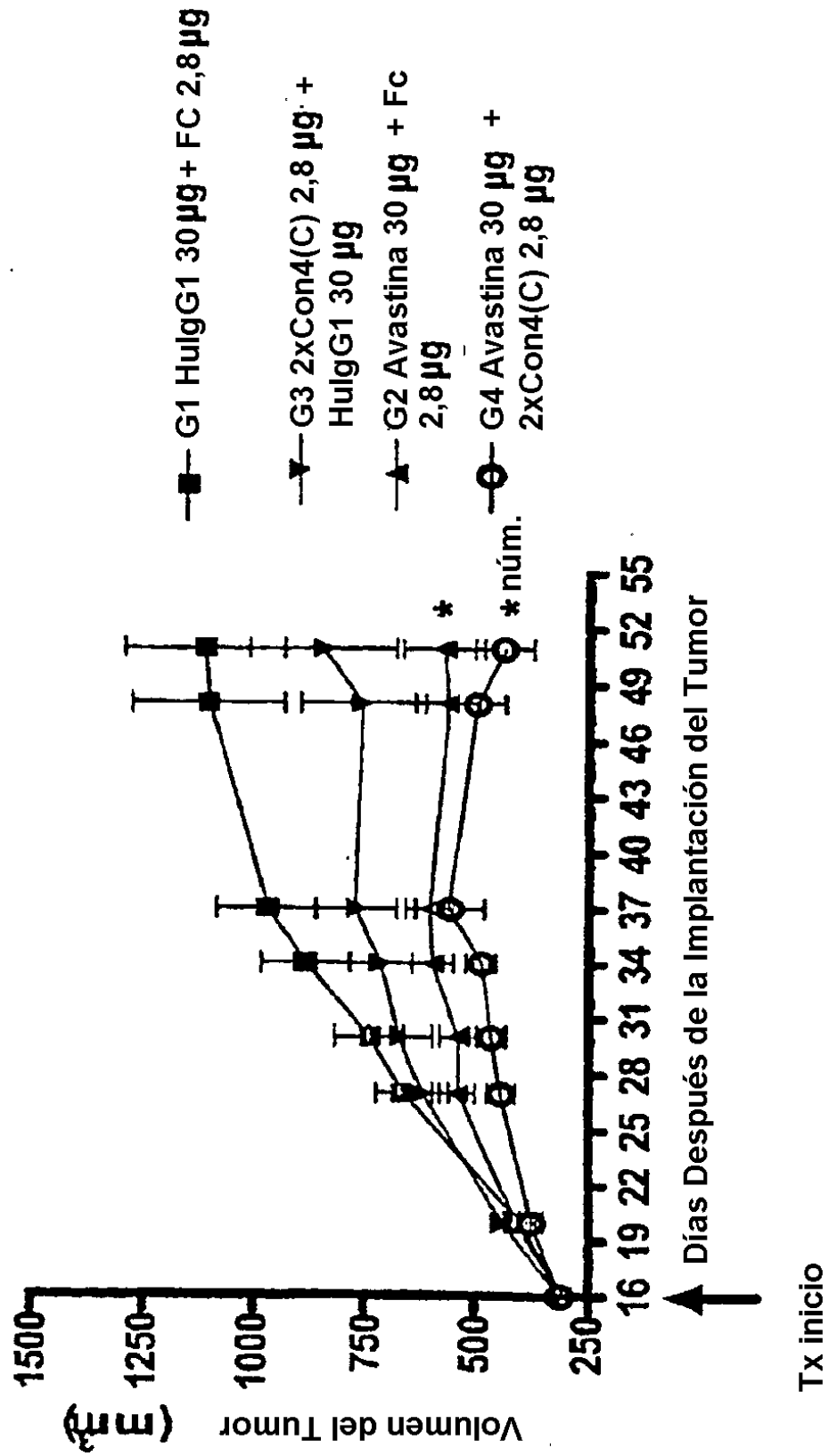


FIGURA 7

