

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 453 295**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/337</b>	(2006.01)	<b>A61K 33/24</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/513</b>	(2006.01)	<b>A61K 38/22</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/704</b>	(2006.01)	<b>A61K 38/21</b>	(2006.01)
<b>A61K 38/03</b>	(2006.01)	<b>A61K 38/17</b>	(2006.01)
<b>A61K 38/10</b>	(2006.01)		
<b>A61K 38/16</b>	(2006.01)		
<b>A61K 38/20</b>	(2006.01)		
<b>A61K 45/06</b>	(2006.01)		
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/675</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2008 E 08733184 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2014 EP 2144607**

54 Título: **Composiciones para contribuir al tratamiento de cánceres**

30 Prioridad:

**13.04.2007 US 911773 P**

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

**07.04.2014**

73 Titular/es:

**SPECTRUM PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)  
157 Technology Drive  
Irvine, CA 92618, US y  
THE BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY  
OF ILLINOIS (50.0%)**

72 Inventor/es:

**GULATI, ANIL;  
GURU, REDDY y  
LENAZ, LUIGI**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 453 295 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**

Composiciones para contribuir al tratamiento de cánceres

**CAMPO DE LA INVENCIÓN**

5 La presente invención se refiere a composiciones para el tratamiento de tumor de ovario con un agonista de endotelina que es IRL-1620 y al menos un agente quimioterapéutico que es ciclofosfamida o cisplatino.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

10 La quimioterapia con la mayoría de agentes anticancerosos está complicada por limitaciones tales como un bajo índice terapéutico y la toxicidad para el tejido hospedador, lo que conduce a situaciones potencialmente mortales y reduce la calidad de vida de muchos pacientes. La falta de eficacia y los efectos secundarios potenciales significativos de los regímenes de quimioterapia estándares están impulsando la búsqueda de enfoques novedosos de la terapia anticancerosa. Es un enfoque para aumentar la eficacia de los fármacos anticancerosos existentes para el tratamiento del cáncer aumentar la captación de fármacos en el tumor, aumentando así la concentración terapéutica en el tumor.

15 El tratamiento exitoso de cánceres, incluyendo tumores sólidos, sigue siendo un objetivo médico insatisfecho, a pesar de la comprensión aumentada de la biología molecular de las células tumorales y la disponibilidad de un número aumentado de agentes terapéuticos potenciales. Por ejemplo, el cáncer de ovario es la quinta causa principal de muertes por cáncer en mujeres, la causa principal de muerte por malignidad ginecológica y la segunda malignidad ginecológica más comúnmente diagnosticada.

20 Es un problema en el tratamiento de cánceres que la dosis eficaz de una amplia variedad de agentes quimioterapéuticos potenciales está limitada por el efecto altamente tóxico no selectivo de estos agentes sobre tejidos normales. Como resultado, muchos pacientes padecen los efectos secundarios de la quimioterapia sin cosechar los beneficios del tratamiento. Por ejemplo, los agentes quimioterapéuticos ciclofosfamida y cisplatino inhiben la proliferación celular e inducen la apoptosis de células tumorales. Sin embargo, la utilidad clínica de ciclofosfamida y cisplatino se obstaculizado por las toxicidades limitantes de dosis. Por tanto, existe la necesidad de desarrollar terapias del cáncer más específicas y menos tóxicas.

25 El suministro orientado de agentes quimioterapéuticos a tumores podría tener la ventaja de potenciar el beneficio de los agentes quimioterapéuticos minimizando sus efectos tóxicos sistémicos. Dicho suministro orientado podría servir también para reducir la dosis requerida de agentes quimioterapéuticos, reduciendo potencialmente por tanto los efectos adversos inaceptables de estos agentes. Un modo posible de conseguir el suministro orientado de agentes quimioterapéuticos es utilizar los rasgos distintivos de los vasos tumorales.

30 Los tumores de más de unos pocos milímetros de tamaño requieren un suministro constante de nutrientes y, por lo tanto, desarrollan su propio lecho vascular y flujo sanguíneo (Folkman, *Cancer Res.*, 46: 467 (1986)). Sin una nutrición constante por estos vasos sanguíneos en desarrollo, los tumores se vuelven hipóxicos y posteriormente mueren. La suplementación de nuevos vasos a partir de vasos sanguíneos preexistentes se denomina "angiogénesis".

35 Durante la angiogénesis, los vasos sanguíneos tumorales se desarrollan de forma sustancialmente diferente de los vasos normales, y tienen propiedades diferentes. Las células epiteliales monocapa son los primeros vasos sanguíneos tumorales formados rápidamente. Estos vasos sanguíneos tumorales recién formados no tienen capa de músculo liso ni inervación. Los tumores incorporan también vasos sanguíneos maduros que poseen todas sus funciones autorreguladoras. Mattsson *et al.*, "Tumor Blood Circulation", CRC Press, Boca Raton, pág. 129 (1979); Reinhold, "Tumor Blood Circulation", CRC Press, Boca Raton, pág. 115 (1979); Warren, "Tumor Blood Circulation", CRC Press, Boca Raton, pág. 26 (1979).

40 El tono vascular (el grado en que los vasos sanguíneos se dilatan o estrechan) está gobernado por una multitud de factores endógenos incluyendo  $H^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $pO_2$ ,  $pCO_2$  y óxido nítrico (NO), así como otras sustancias reguladoras tales como endotelina (ET-1). Secombe *et al.*, Landes, Austin, pág. 40 (1994); Luscher *et al.*, "The endothelium: modulator of cardiovascular function", CRC Press, Boca Raton, pág. 61 (1990). La ET-1 contribuye significativamente a regular el tono vascular (Yanagisawa *et al.*, *Nature*, 332: 411 (1988)) y los investigadores han mostrado un aumento en la expresión de receptores  $ET_1$  y  $ET_B$  en tumores sólidos incluyendo carcinomas de mama. Alanen *et al.*, *Histopathology*, 36: 161 (2000); Nelson *et al.*, *Cancer Res.*, 56: 663 (1996); Kar *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 216: 514 (1995); Pagotto *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 96: 2017 (1995); Yamashita *et al.*, *Cancer Res.*, 52: 4046 (1992); Yamashita *et al.*, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 74: 363 (1991). Adicionalmente, la estimulación de los receptores  $ET_B$  causa un aumento del suministro de sangre a tumores mediante la vasodilatación de los vasos sanguíneos tumorales. La presente divulgación aprovecha este hecho usando agonistas del receptor  $ET_B$  para aumentar selectivamente el flujo sanguíneo a tumores para potenciar el suministro orientado de agentes quimioterapéuticos.

**SUMARIO DE LA INVENCION**

La presente divulgación está relacionada con el aumento selectivo de la captación de agentes anticancerosos tales como ciclofosfamida y cisplatino en tumores tales como tumores de ovario mediante la administración de un agonista de ET<sub>B</sub> con al menos un agente anticanceroso. Un régimen de tratamiento de acuerdo con la presente invención reduce el volumen tumoral, tal como el volumen de un tumor ovárico, en animales.

Los métodos de la presente divulgación contribuyen al tratamiento del cáncer. Los métodos incluyen la administración a un animal necesitado de tratamiento de al menos un agonista de endotelina B (ET<sub>B</sub>) y al menos un agente quimioterapéutico. Los cánceres tratables de acuerdo con la presente divulgación incluyen, pero sin limitación, tumores sólidos como tumores de ovario, tumores de colon, sarcoma de Kaposi, tumores de mama, melanomas, tumores de próstata, meningiomas, tumores de hígado, tumores filodes de mama, tumores cerebrales, tumores de cuello, tumores de pulmón y combinaciones de tumores. Los métodos de la presente divulgación incluyen mecanismos mediante los cuales el agonista de ET<sub>B</sub> aumenta selectivamente el suministro sanguíneo al tumor, aumentando así el suministro del agente o agentes quimioterapéuticos al tumor. El agonista de ET<sub>B</sub> y los agentes quimioterapéuticos pueden administrarse de forma sustancialmente simultánea (por ejemplo, como una sola composición) o secuencial (por ejemplo, el agente quimioterapéutico se administra antes que el agonista de ET<sub>B</sub> o viceversa).

La presente divulgación está también dirigida a composiciones que tienen al menos un agente quimioterapéutico, al menos un agonista de ET<sub>B</sub> y, opcionalmente, al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. El agonista o agonistas de ET<sub>B</sub> y el agente o agentes quimioterapéuticos pueden ser parte de la misma composición, proporcionarse como composiciones separadas o ambas cosas.

Los agonistas de ET<sub>B</sub> adecuados para uso en cualquiera de los métodos o composiciones de la presente divulgación incluyen, pero sin limitación, ET-1, ET-2, ET-3, BQ3020, IRL1620 (N-suc-[Glu<sup>9</sup>, Ala<sup>11,15</sup>]ET-1 (8-21)), sarafotoxina 56c, [Ala<sup>1,3,11,15</sup>]ET-1 y combinaciones. El IRL-1620 es un agonista de ET<sub>B</sub> preferido.

Los agentes quimioterapéuticos adecuados para uso en cualquiera de los métodos o composiciones de la presente divulgación incluyen, pero sin limitación, adriamicina, camptotecina, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, daunorubicina, doxorubicina, interferón α, interferón β, interferón γ, interleucina 2, irinotecán, docetaxel, paclitaxel, topotecán, 5-fluorouracilo y combinaciones. Son agentes quimioterapéuticos preferidos cisplatino, ciclofosfamida y su combinación.

La invención se define en las reivindicaciones.

**BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS**

La Figura 1 representa el volumen tumoral de ratones con tumor de ovario (N= 6) a los que se ha procurado separadamente disolución salina, IRL-1620 (3 nmol/kg), disolución salina + cisplatino (2,5 mg/kg) o IRL-1620 (3 nmol/kg) + cisplatino (2,5 mg/kg) una vez cada tres días para un total de 4 dosis;

la Figura 2 representa el peso corporal de ratones con tumor de ovario (N= 6) a los que se ha procurado separadamente disolución salina, IRL-1620 (3 nmol/kg), disolución salina + cisplatino (2,5 mg/kg) o IRL-1620 (3 nmol/kg) + cisplatino (2,5 mg/kg) una vez cada tres días para un total de 4 dosis;

la Figura 3 representa el volumen tumoral de ratones con tumor de ovario (N= 6) a los que se ha procurado separadamente disolución salina, IRL-1620 (3 nmol/kg), disolución salina + ciclofosfamida (75 mg/kg) o IRL-1620 (3 nmol/kg) + ciclofosfamida (75 mg/kg) una vez cada tres días para un total de 4 dosis; y,

la Figura 4 representa el peso corporal de ratones con tumor de ovario (N= 6) a los que se ha procurado separadamente disolución salina, IRL-1620 (3 nmol/kg), disolución salina + ciclofosfamida (75 mg/kg) o IRL-1620 (3 nmol/kg) + ciclofosfamida (75 mg/kg) una vez cada tres días para un total de 4 dosis.

**DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION**

Los métodos de la presente divulgación contribuyen al tratamiento del cáncer. En una realización, la presente divulgación se refiere a un método de contribución al tratamiento del cáncer que comprende administrar un agonista de endotelina B (ET<sub>B</sub>) y al menos un agente quimioterapéutico.

Como se usan en la presente memoria, los términos "tratar", "tratamiento" y "contribuir al tratamiento de" significarán prevenir, retardar la progresión o crecimiento, contraer o eliminar un cáncer, incluyendo un tumor sólido. Como tales, estos términos incluyen tanto administración médica terapéutica como profiláctica, según sea apropiado.

La mayoría de agentes quimioterapéuticos tienen propiedades citotóxicas que están orientadas a destruir células cancerosas, pero en el proceso infligen un daño considerable a los sistemas fisiológicos normales del cuerpo. Por lo tanto, sería una gran ventaja suministrar selectivamente agentes quimioterapéuticos a tumores sólidos, ayudando por tanto a evitar estos efectos negativos del tratamiento del cáncer.

La angioarquitectura de los vasos sanguíneos tumorales es diferente de la de los vasos sanguíneos normales. Carmeliet y Jain, *Nature*, 407: 249 (2000). Por lo tanto, la reactividad vascular de los tumores difiere de la del tejido normal. Por ejemplo, la administración de donantes de óxido nítrico, agonistas de nicotinamida y bradiquinina modula el flujo sanguíneo a tumores. Jordan *et al.*, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 48: 565 (2000); Fukumura *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 150: 713 (1997); Hirst *et al.*, *Br. J. Radiol.*, 67: 795 (1994).

La endotelina es una sustancia vasoactiva que modula el flujo sanguíneo y está presente en altas concentraciones en tejidos de carcinoma de mama en comparación con tejido de mama normal (específicamente, la endotelina puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 12 pg/mg en tejidos de carcinoma de mama en comparación con aproximadamente 0,12 pg/mg en tejido de mama normal). Kojima *et al.*, *Surg. Oncol.*, 4(6): 309 (1995); Kurbel *et al.*, *Med. Hypotheses*, 52(4): 329 (1999); Patel *et al.*, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 126(2): 143 (1997); Yamashita *et al.*, *Cancer Res.*, 52(14): 4046 (1992); Yamashita *et al.*, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 74(3): 363 (1991). Las endotelinas son una familia de péptidos cíclicos con 21 aminoácidos que comprende tres isoformas en mamíferos, ET-1, ET-2 y ET-3. Inoue *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2863 (1989); Yanagisawa *et al.*, *Nature*, 332:411 (1988). Las endotelinas ejercen su efecto uniéndose a dos receptores de superficie celular distintos, ET<sub>A</sub> y ET<sub>B</sub>. El receptor ET<sub>B</sub> se une a los tres isotipos peptídicos con igual afinidad. En contraposición, el receptor ET<sub>A</sub> se une a ET-1 con mayor afinidad que a las demás isoformas. Ambos receptores pertenecen al sistema de receptores acoplados a proteína G y median las respuestas biológicas frente a una variedad de estímulos, incluyendo factores de crecimiento, polipéptidos vasoactivos, neurotransmisores y hormonas. Masaki, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 35:S3 (2000); Gulati, Preface. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 40: 129 (2000); Gulati *et al.*, *Am. J. Physiol.*, 273: H827 (1997); Levin, *N. Engl. J. Med.*, 333: 356 (1995). Los receptores ET<sub>B</sub>, eje de la presente invención, están presentes tanto en células endoteliales (EC) como en células de músculo liso vascular (VSMC) y están aumentadas en tejido de cáncer de mama (incluyendo en tejido invasivo así como de carcinoma de mama ductal y lobular) en comparación con tejido de mama normal. Wulfig *et al.*, *Oncol. Rep.*, 11: 791 (2004); Wulfig *et al.*, *Clin. Cancer Res.*, 9: 4125 (2003); Alanen *et al.*, *Histopathology*, 36(2): 161 (2000). La endotelina actúa sobre los receptores ET<sub>B</sub> produciendo dilatación vascular y aumentando el flujo sanguíneo al tejido de tumor de mama. Los receptores ET<sub>B</sub> predominantes en EC producen vasodilatación mediante la liberación de factores tales como prostaciclina y óxido nítrico, de Nucci *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 9797 (1988). Debido a que ET-1 produce un aumento en el flujo sanguíneo a tumores al estimular los receptores ET<sub>B</sub>, puede usarse un agonista del receptor ET<sub>B</sub> para aumentar selectivamente el suministro sanguíneo a tumores, aumentando por tanto el suministro orientado y la eficacia resultante de los agentes quimioterapéuticos.

Los receptores ET<sub>B</sub> se han mostrado, por ejemplo y sin limitación, en cánceres de ovario, miofibroblastos, tumores de sarcoma de Kaposi y vasos intratumorales, cánceres de mama y melanomas. Bagnato *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 158: 841 (2001); Alanen *et al.*, *Histopathology*, 36(2): 161 (2000); Bagnato *et al.*, *Cancer Res.*, 59: 720 (1999); Kikuchi *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 219: 734 (1996). Por lo tanto, la administración de un agonista del receptor ET<sub>B</sub> en combinación con un agente quimioterapéutico puede usarse para contribuir al tratamiento de tumores sólidos incluyendo, sin limitación, cáncer de ovario, carcinoma de colon, sarcoma de Kaposi, cáncer de mama y melanomas.

Los agonistas de ET<sub>B</sub> útiles de acuerdo con la presente divulgación incluyen, sin limitación, ET-1, ET-2, ET-3, BQ3020, IRL1620 (N-suc-[Glu<sup>9</sup>, Ala<sup>11,15</sup>]ET-1 (8-21)), sarafotoxina 56c, [Ala<sup>1,3,11,15</sup>]ET-1 y combinaciones de los mismos. [Ala<sup>1,3,11,15</sup>]ET-1 es un análogo lineal de ET-1 en que los puentes disulfuro se han retirado por sustitución de residuos Cys por Ala. Saeki *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 179: 286 (1991). BQ3020 e IRL1620 son análogos sintéticos lineales truncados de ET-1 y son los agonistas sintéticos selectivos más ampliamente usados. IRL-1620 es un análogo de ET lineal cuya estructura está basada en el extremo carboxiterminal de ET-1 y tiene 120.000 veces más selectividad por los receptores ET<sub>B</sub>. Okada y Nishikibe, *Cardiovasc. Drug. Rev.*, 20: 53 (2002); Douglas *et al.*, *Br. J. Pharmacol.*, 114: 1529 (1995). IRL-1620 es un agonista de ET<sub>B</sub> altamente selectivo y potente, habiéndose reseñado evidencias de su selectividad por el subtipo de receptor ET<sub>B1</sub> preferiblemente frente al subtipo ET<sub>B2</sub>. Brooks *et al.*, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 26 suppl. 3: S322 (1995).

Los agentes quimioterapéuticos útiles de acuerdo con la presente divulgación incluyen, por ejemplo y sin limitación, agentes alquilantes, antimetabolitos, hormonas y antagonistas de las mismas, radioisótopos, anticuerpos así como productos naturales, y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, puede administrarse un agonista de ET<sub>B</sub> con antibióticos tales como doxorubicina y otros análogos de antraciclina, mostazas nitrogenadas tales como, sin limitación, ciclofosfamida, análogos de pirimidina tales como, sin limitación, 5-fluorouracilo, cisplatino, hidroxiaurea y sus derivados naturales y sintéticos y similares. Como otro ejemplo, en el caso de tumores mixtos tales como adenocarcinoma de mama, en que los tumores incluyen células dependientes de gonadotropina e independientes de gonadotropina, el agonista de ET<sub>B</sub> puede administrarse junto con, sin limitación, leuprolida o goserelina (análogos peptídicos sintéticos de LH-RH). Los ejemplos no limitantes adicionales de agentes quimioterapéuticos que pueden usarse con la presente invención incluyen ciclofosfamida, cisplatino, adriamicina, camptotecina, carboplatino, daunorubicina, doxorubicina, interferón (α, β y/o γ), interleucina 2, irinotecán, docetaxel, paclitaxel, topotecán y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.

Se ha teorizado, pero no depende de ello la presente memoria, que los agonistas de endotelina estimulan los receptores ET<sub>B</sub> para dilatar los vasos sanguíneos tumorales, aumentando así el flujo sanguíneo y el suministro resultante de agentes quimioterapéuticos al tumor. La perfusión sanguínea aumentada de tumores causada por agonistas de endotelina aumenta también la oxigenación del tejido. Una oxigenación mejorada puede potenciar la

acción terapéutica de los agentes quimioterapéuticos. La endotelina puede tener también propiedades mitogénicas. Las acciones mitogénicas de la endotelina pueden ayudar a aumentar la acción de los agentes quimioterapéuticos cuando se administran conjuntamente. La acción mitogénica de un agonista de endotelina puede aumentar la acción de los agentes quimioterapéuticos al mejorar su incorporación a células en división, aumentando por tanto su eficacia.

La quimioterapia se indica frecuentemente como coadyuvante de cirugía en el tratamiento de un cáncer. El objetivo de la quimioterapia en el escenario coadyuvante es reducir el riesgo de recurrencia y potenciar una supervivencia exenta de enfermedad cuando el tumor primario se ha controlado. La quimioterapia se utiliza como tratamiento coadyuvante para un cáncer frecuentemente cuando la enfermedad es metastásica. Por lo tanto, un agonista de ET<sub>B</sub> es particularmente útil antes o después de cirugía en el tratamiento de un tumor sólido en combinación con quimioterapia.

En otra realización del presente método, el cáncer es un tumor sólido. En otra realización, el tumor sólido se selecciona del grupo consistente en un tumor de ovario, un tumor de colon, un sarcoma de Kaposi, un tumor de mama, un melanoma, un tumor de próstata, un meningioma, un tumor de hígado, un tumor filode de mama, tumor cerebral, tumor de cuello, tumor de pulmón y combinaciones de los mismos. En otra realización, el tumor sólido es tumor de ovario.

En otra realización, el agonista de ET<sub>B</sub> se selecciona del grupo consistente en ET-1, ET-2, ET-3, BQ3020, IRL1620 (N-suc-[Glu<sup>9</sup>, Ala<sup>11,15</sup>]ET-1 (8-21)), sarafotoxina 56c, [Ala<sup>1, 3, 11, 15</sup>]ET-1 y combinaciones de los mismos. En otra realización, el agonista de ET<sub>B</sub> es IRL-1620.

En otra realización, el agente quimioterapéutico se selecciona del grupo consistente en adriamicina, camptotecina, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, daunorubicina, interferón  $\alpha$ , interferón  $\beta$ , interferón  $\gamma$ , interleucina 2, irinotecán, docetaxel, paclitaxel, topotecán, 5-fluorouracilo y combinaciones de los mismos. En otra realización, el agente quimioterapéutico es cisplatino, ciclofosfamida o una combinación de los mismos.

En otra realización, el aumento en el suministro sanguíneo al tumor aumenta el suministro del agente quimioterapéutico al tumor sólido. En otra realización, el agonista de ET<sub>B</sub> y el agente quimioterapéutico se administran de forma sustancialmente simultánea. En otra realización, el agonista de ET<sub>B</sub> y el agente quimioterapéutico se administran en forma de una sola composición. En otra realización, el agonista de ET<sub>B</sub> y el agente quimioterapéutico se administran secuencialmente. El agente quimioterapéutico puede administrarse antes que el agonista de ET<sub>B</sub> o el agonista de ET<sub>B</sub> puede administrarse antes que el agente quimioterapéutico.

La presente divulgación se refiere también a una composición que comprende un agente quimioterapéutico, un agonista de ET<sub>B</sub> y un excipiente opcional. El agonista de ET<sub>B</sub> y el agente quimioterapéutico son parte de la misma composición, se proporcionan como composiciones separadas o ambas cosas. El agonista de ET<sub>B</sub> puede seleccionarse del grupo consistente en ET-1, ET-2, ET-3, BQ3020, IRL1620 (Nsuc-[Glu<sup>9</sup>, Ala<sup>11, 15</sup>]ET-1 (8-21)), sarafotoxina 56c, [Ala<sup>1, 3, 11, 15</sup>]ET-1 y combinaciones de los mismos. El agonista de ET<sub>B</sub> puede ser IRL-1620. El agente quimioterapéutico puede seleccionarse del grupo consistente en adriamicina, camptotecina, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, daunorubicina, doxorubicina, interferón  $\alpha$ , interferón  $\beta$ , interferón  $\gamma$ , interleucina 2, irinotecán, docetaxel, paclitaxel, topotecán, 5-fluorouracilo y combinaciones de los mismos.

En otra realización, el agente quimioterapéutico es cisplatino, ciclofosfamida o una combinación de los mismos y el agonista de ET<sub>B</sub> es IRL-1620.

#### 40 EJEMPLO

Se ha descubierto sorprendentemente que la administración de IRL-1620 y al menos un agente anticanceroso aumenta selectivamente la captación de agentes anticancerosos, por ejemplo ciclofosfamida y cisplatino, en tumores de ovario. Un régimen de tratamiento de acuerdo con la presente invención reduce el volumen de tumor de ovario en animales.

Se realizó un estudio de eficacia preclínica en el modelo de tumor de ovario humano en ratones. Las células tumorales usadas fueron células SK-OV3 adquiridas en la ATCC. Los ratones eran ratones hembra atímicos de 4-6 semanas (nu+/nu+). Se infundió lentamente IRL-1620 por vía intravenosa (durante 30 s). Se obtuvo el IRL-1620 de American Peptides, CA. Se obtuvo la ciclofosfamida de Cadila Pharmaceuticals, Ahmedabad (nº de lote GW-4005). El cisplatino se obtuvo también de Cadila Pharmaceuticals, Ahmedabad (nº de lote KL-5005).

Se indujo un tumor sólido en cada animal usando 3 millones de células SK-OV3 viables suspendidas en 200  $\mu$ l de PBS por animal. Después de 10 días, cuando fueron detectables tumores establecidos de 100 mm<sup>3</sup> de diámetro, se dividieron aleatoriamente los ratones en 6 grupos de 6 animales por grupo, recibiendo cada grupo tratamientos diferentes. Se administraron los regímenes de tratamiento por la vena de la cola cada 3 días para un total de 4 dosis. Se trataron los grupos como sigue: (1) ratones portadores de tumor que recibieron disolución salina (N= 6); (2) ratones portadores de tumor que recibieron IRL-1620 (3 nmol/kg) (N= 6); (3) ratones portadores de tumor que recibieron vehículo (disolución salina) + ciclofosfamida (75 mg/kg) (N= 6); (4) ratones portadores de tumor que recibieron IRL-1620 (3 nmol/kg) + ciclofosfamida (75 mg/kg) (N= 6); (5) ratones portadores de tumor que recibieron

disolución salina + cisplatino (2,5 mg/kg) (N= 6) y (6) ratones portadores de tumor que recibieron IRL-1620 (3 nmol/kg) + cisplatino (25 mg/kg) (N= 6).

Se midió el efecto de estos tratamientos sobre el tamaño tumoral usando un calibre digital durante un total de 12 días después de la administración de fármaco. Se monitorizaron los ratones y se pesaron cada 3 días. Las dosis administradas eran la mitad de la dosis tolerada máxima de ciclofosfamida y cisplatino para el modelo de xenoinjerto de ovario humano en ratones desnudos reseñada en la bibliografía publicada (*British Journal of Cancer* (2000) 83, 921-927). Se sacrificaron los animales con pentobarbital 150-200 mg/kg para cada ratón. Se midió la progresión, estasis, regresión parcial o regresión completa del crecimiento tumoral mediante medidas de la carga tumoral con calibres y se calculó usando la siguiente fórmula:  $(3,14/6) \times \text{diámetro mayor} \times \text{diámetro menor}$ .

Se muestran los resultados del estudio en las figuras. La Figura 1 representa el volumen tumoral de ratones portadores de tumor de ovario a los que se ha procurado IRL-1620 (3 nmol/kg) y cisplatino (2,5 mg/kg). Se procuraron a 6 ratones portadores de tumor de ovario (N= 6) disolución salina, IRL-1620 (3 nmol/kg), disolución salina + cisplatino (2,5 mg/kg) o IRL-1620 (3 nmol/kg) + cisplatino (2,5 mg/kg). El programa de dosificación fue de una vez cada 3 días para un total de 4 dosis. Se midieron el peso corporal y los volúmenes tumorales cada 3 días hasta el día 22. Los ratones tratados con IRL-1620/cisplatino mostraron más reducción del volumen tumoral en comparación con los ratones tratados con disolución salina/cisplatino.

La Figura 2 representa el peso corporal de ratones portadores de tumor de ovario a los que se han procurado IRL-1620 (3 nmol/kg) y cisplatino (2,5 mg/kg). Se procuraron a 6 ratones portadores de tumor de ovario (N= 6) disolución salina, IRL-1620 (3 nmol/kg), disolución salina + cisplatino (2,5 mg/kg) o IRL-1620 (3 nmol/kg) + cisplatino (2,5 mg/kg). El programa de dosificación fue de una vez cada 3 días para un total de 4 dosis. Se midieron el peso corporal y los volúmenes tumorales cada 3 días hasta el día 22. El peso corporal en todos los grupos fue similar.

La Figura 3 representa el volumen tumoral de ratones portadores de tumor de ovario a los que se han procurado IRL-1620 (3 nmol/kg) y ciclofosfamida (75 mg/kg). Se procuró a 6 ratones portadores de tumor de ovario (N= 6) disolución salina, IRL-1620 (3 nmol/kg), disolución salina + ciclofosfamida (75 mg/kg) o IRL-1620 (3 nmol/kg) + ciclofosfamida (75 mg/kg). El programa de dosificación fue de una vez cada 3 días para un total de 4 dosis. Se midieron el peso corporal y los volúmenes tumorales cada 3 días hasta el día 22. Los ratones tratados con IRL-1620/ciclofosfamida mostraron más reducción del volumen tumoral en comparación con los ratones tratados con disolución salina/ciclofosfamida.

La Figura 4 representa el peso corporal de ratones portadores de tumor de ovario a los que se ha procurado IRL-1620 (3 nmol/kg) y ciclofosfamida (75 mg/kg). Se procuraron a 6 ratones portadores de tumor de ovario (N= 6) disolución salina, IRL-1620 (3 nmol/kg), disolución salina + ciclofosfamida (75 mg/kg), IRL-1620 (3 nmol/kg) + ciclofosfamida (75 mg/kg). El programa de dosificación fue de una vez cada tres días hasta el día 22. El peso corporal en todos los grupos fue similar.

Basándose en estos resultados, resulta evidente que la administración de IRL-1620 solo con, entre otros, ciclofosfamida o cisplatino contribuye al tratamiento de tumores de cáncer de ovario al reducir el tamaño del tumor. Había un aumento significativo del volumen tumoral en ratones portadores de tumor de ovario tratados solo con disolución salina. En este estudio, el IRL-1620 solo no afectaba significativamente el volumen tumoral en comparación con los controles. Los animales tratados con disolución salina/cisplatino mostraron una reducción significativa del volumen tumoral. Sin embargo, los ratones tratados con IRL-1620/cisplatino mostraron una mayor reducción del volumen tumoral que los ratones tratados con disolución salina/cisplatino. Los animales tratados con disolución salina/ciclofosfamida mostraron una reducción significativa del volumen tumoral. Sin embargo, los ratones tratados con IRL-1620/ciclofosfamida mostraron una mayor reducción del volumen tumoral que los ratones tratados con disolución salina/ciclofosfamida.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los ingredientes activos descritos son adecuadas para administración a seres humanos u otros mamíferos. Típicamente, las composiciones farmacéuticas son estériles y no contienen compuestos carcinogénicos o mutagénicos tóxicos que causarían una reacción adversa al administrarse. La administración de la composición farmacéutica puede efectuarse antes, durante o después del inicio del crecimiento de tumor sólido.

Puede lograrse un método de la presente divulgación usando ingredientes activos como se describen anteriormente, o como sal, derivado, profármaco o solvato fisiológicamente aceptable de los mismos. Los ingredientes activos pueden administrarse como compuesto puro o como una composición farmacéutica que contiene cualquiera o ambas entidades.

Como se usa en la presente memoria, el término "profármaco" significará compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* en un compuesto útil en la invención, por ejemplo por hidrólisis. Se proporciona una discusión exhaustiva de los profármacos en Higuchi *et al.*, "Prodrugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14, de la A.C.S.D. Symposium Series, y en Roche (ed.), "Bioreversible Carriers in Drug Design", American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

- Las composiciones farmacéuticas incluyen aquellas en las que los ingredientes activos se administran en una cantidad eficaz para conseguir su fin pretendido. Más específicamente, una “cantidad terapéuticamente eficaz” significa una cantidad eficaz para prevenir el desarrollo, eliminar, retardar la progresión o reducir el tamaño de un tumor sólido. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz está bien dentro de las capacidades de los especialistas en la materia, especialmente a la vista de la divulgación detallada proporcionada en la presente memoria.
- Una “dosis terapéuticamente eficaz” hace referencia a aquella cantidad de los ingredientes activos que da como resultado conseguir el efecto deseado. La toxicidad y la eficacia terapéutica de dichos ingredientes activos pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándares en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, determinando la DL<sub>50</sub> (la dosis letal para el 50 % de la población) y la DE<sub>50</sub> (la dosis terapéuticamente eficaz para el 50 % de la población). La relación de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, que se expresa como la relación entre DL<sub>50</sub> y DE<sub>50</sub>. Se prefiere un alto índice terapéutico. Los datos obtenidos pueden usarse en la formulación de una serie de dosificaciones para uso en seres humanos. La dosificación de los ingredientes activos se encuentra preferiblemente dentro del intervalo de concentraciones en circulación que incluye la DE<sub>50</sub> con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada.
- La formulación y dosificación exactas se determinan por un médico individual a la vista del estado del paciente. La cantidad e intervalo de dosificación pueden ajustarse individualmente para proporcionar niveles de ingredientes activos que sean suficientes para mantener los efectos terapéuticos o profilácticos.
- La cantidad de composición farmacéutica administrada puede depender del sujeto que se esté tratando, del peso del sujeto, de la gravedad de la afección, del modo de administración y del criterio del médico recetador.
- Los ingredientes activos puede administrarse solos o mezclados con un portador farmacéutico seleccionado con respecto a la vía de administración pretendida y la práctica farmacéutica estándar. Las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden formularse por tanto de manera convencional usando uno o más portadores fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los ingredientes activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente.
- Como se usan en la presente memoria, los excipientes pueden ser sustancias portadoras orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables adecuadas para aplicación parenteral, entérica o intranasal que no reaccionan perjudicialmente con los compuestos activos y no son perjudiciales para el receptor de los mismos. Los portadores farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, pero sin limitación, agua, disoluciones salinas, alcohol, aceites vegetales, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, aceite perfumado, monoglicéridos y diglicéridos de ácido graso, ésteres de ácido graso del petróleo, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, etc. Las preparaciones farmacéuticas pueden esterilizarse y, si se desea, mezclas con agentes auxiliares, por ejemplo lubricantes, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, sales para influir en la presión osmótica, tampones, colorantes, aromatizantes y/o sustancias aromáticas y similares que no reaccionen de forma perjudicial con los compuestos activos.
- Cuando se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de los ingredientes activos, la composición puede estar en forma de una disolución acuosa exenta de pirógenos parenteralmente aceptable. La preparación de dichas disoluciones parenteralmente aceptables, con la consideración debida a pH, isotonicidad, estabilidad y similares, está dentro de las habilidades de la materia. Una composición preferida para inyección intravenosa contendrá un vehículo isotónico, aunque esta característica no es necesaria.
- Para uso veterinario, los ingredientes activos se administran como una formulación adecuadamente aceptable de acuerdo con la práctica veterinaria normal. El veterinario puede determinar fácilmente el régimen de dosificación que es más apropiado para un animal particular.
- Pueden hacerse diversas adaptaciones y modificaciones de las realizaciones y usarse sin apartarse del alcance y espíritu de la presente invención, que puede practicarse de modo distinto a como se describe específicamente en la presente memoria. La descripción anterior se pretende que sea ilustrativa y no restrictiva. El alcance de la presente invención se va a determinar solo por las reivindicaciones.
- Los términos y expresiones que se han empleado en la presente memoria se usan como términos descriptivos y no limitantes, y no hay intención en el uso de dichos términos y expresiones de excluir equivalentes de los rasgos mostrados y descritos, o partes de los mismos, reconociéndose que son posibles diversas modificaciones dentro del alcance de la presente invención reivindicada. Además, uno cualquiera o más de los rasgos de cualquier realización de la presente invención puede combinarse con uno cualquiera o más de otros rasgos de otra cualquiera realización de la presente invención sin apartarse del alcance de la presente invención.
- A menos que se indique otra cosa, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, propiedades tales como peso molecular, condiciones de reacción y demás usados en la memoria descriptiva han de entenderse como modificados en todos los casos con el término “aproximadamente”. Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en la memoria descriptiva son aproximaciones que pueden variar

5 dependiendo de las propiedades deseadas que se busca obtener por la presente invención. Como mínimo, cada parámetro numérico debería considerarse al menos a la vista del número de dígitos significativos reseñados y aplicando técnicas de redondeo ordinarias. A pesar de que los intervalos y parámetros numéricos que exponen el alcance amplio de la invención son aproximaciones, los valores numéricos expuestos en los ejemplos específicos se reseñan lo más precisamente posible. Sin embargo, cualquier valor numérico contiene inherentemente ciertos errores que resultan necesariamente de la desviación estándar encontrada en sus medidas de ensayo respectivas.

10 Los términos “un”, “una” y “el/la” y referentes similares usados en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) ha de considerarse que cubren tanto el singular como el plural, a menos que se indique otra cosa en la presente memoria o se contradiga claramente por el contexto. La enumeración de intervalos de valores en la presente memoria se pretende que sirva meramente como método abreviado de hacer referencia individualmente a cada valor separado que entre dentro del intervalo. A menos que se indique otra cosa en la presente memoria, cada valor individual se incorpora a la memoria descriptiva como si se enumerase individualmente en la presente memoria. Todos los métodos descritos en la presente memoria pueden efectuarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique otra cosa en la presente memoria o se contradiga claramente de otro modo por el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos o vocabularios de los ejemplos (por ejemplo, “tal como”) proporcionados en la presente memoria se pretende meramente para mejor ilustrar la invención y no plantea una limitación al alcance de la invención reivindicado de otro modo.

20 Los agrupamientos de elementos o realizaciones alternativos de la divulgación no han de considerarse como limitaciones. Puede hacerse referencia a cada miembro del grupo y reivindicarse individualmente o en cualquier combinación con otros miembros del grupo u otros elementos encontrados en la presente memoria.

Se describen en la presente memoria ciertas realizaciones de esta invención, incluyendo el mejor modo conocido por los inventores de llevar a cabo la invención. Por supuesto, las variaciones de estas realizaciones descritas resultarán evidentes para los especialistas en la materia tras la lectura de la descripción anterior. El inventor espera que los especialistas empleen dichas variaciones según sea apropiado.

25 Para terminar, ha de entenderse que las realizaciones de la invención dadas a conocer en la presente memoria son ilustrativas de los principios de la presente invención. Están dentro del alcance de la invención otras modificaciones que pueden emplearse. Por tanto, a modo de ejemplo pero no de limitación, pueden utilizarse configuraciones alternativas de la presente invención de acuerdo con las enseñanzas de la presente memoria. Por consiguiente, la presente invención no está limitada precisamente a lo que se muestra y describe.

30

**REIVINDICACIONES**

1. Un agonista del receptor  $ET_B$  para uso en el tratamiento de un tumor de ovario mediante administración simultánea o secuencial con al menos un agente quimioterapéutico, en el que el agonista del receptor  $ET_B$  es IRL-1620, en el que dicho agente quimioterapéutico es cisplatino, ciclofosfamida o una combinación de los mismos.
- 5 2. Uso de un agonista del receptor  $ET_B$  en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un tumor de ovario mediante administración simultánea o secuencial con al menos un agente quimioterapéutico, en el que el agonista del receptor  $ET_B$  es IRL-1620, en el que dicho agente quimioterapéutico es cisplatino, ciclofosfamida o una combinación de los mismos.
- 10 3. El uso o agonista del receptor  $ET_B$  para uso según la reivindicación 1 o 2, en el que dicho agonista del receptor  $ET_B$  aumenta selectivamente el suministro sanguíneo a dicho tumor de ovario.
4. El uso o agonista del receptor  $ET_B$  para uso según la reivindicación 3, en el que dicho aumento de dicho suministro sanguíneo a dicho tumor de ovario aumenta el suministro de dicho agente quimioterapéutico a dicho tumor de ovario.
- 15 5. El uso o agonista del receptor  $ET_B$  para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho agonista del receptor  $ET_B$  y dicho agente quimioterapéutico se van a administrar simultáneamente; preferiblemente en el que dicho agonista de  $ET_B$  y dicho agente quimioterapéutico se administran como una sola composición.
6. El uso o agonista del receptor  $ET_B$  para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho agonista del receptor  $ET_B$  y dicho agente quimioterapéutico se administran secuencialmente.
- 20 7. Un kit para uso en el tratamiento de un tumor de ovario que comprende al menos un agente quimioterapéutico, un agonista del receptor  $ET_B$  y un excipiente opcional, en el que dicho agonista del receptor  $ET_B$  es IRL-1620 y en el que dicho agente quimioterapéutico es cisplatino, ciclofosfamida o una combinación de los mismos.

FIG. 1

Efecto de IRL-1620 sobre la eficacia del cisplatino (CIS) en ratones atímicos portadores de tumor de ovario

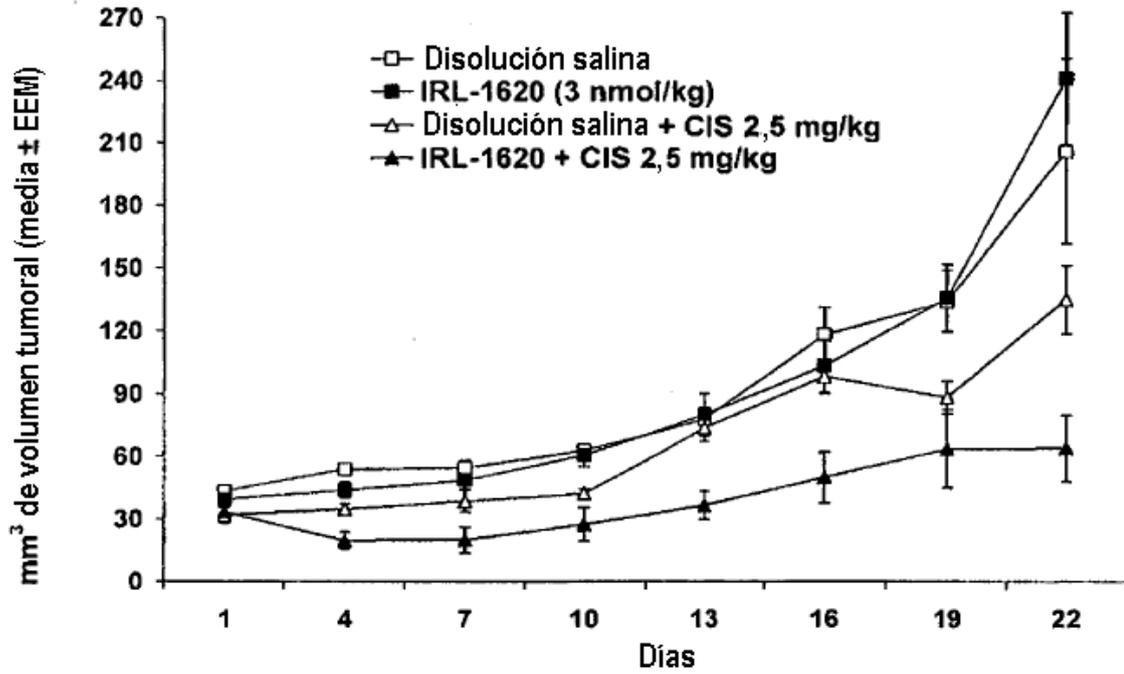


FIG. 2

Efecto de IRL1620 sobre el peso corporal de ratones portadores de tumor de ovario administrados con CIS

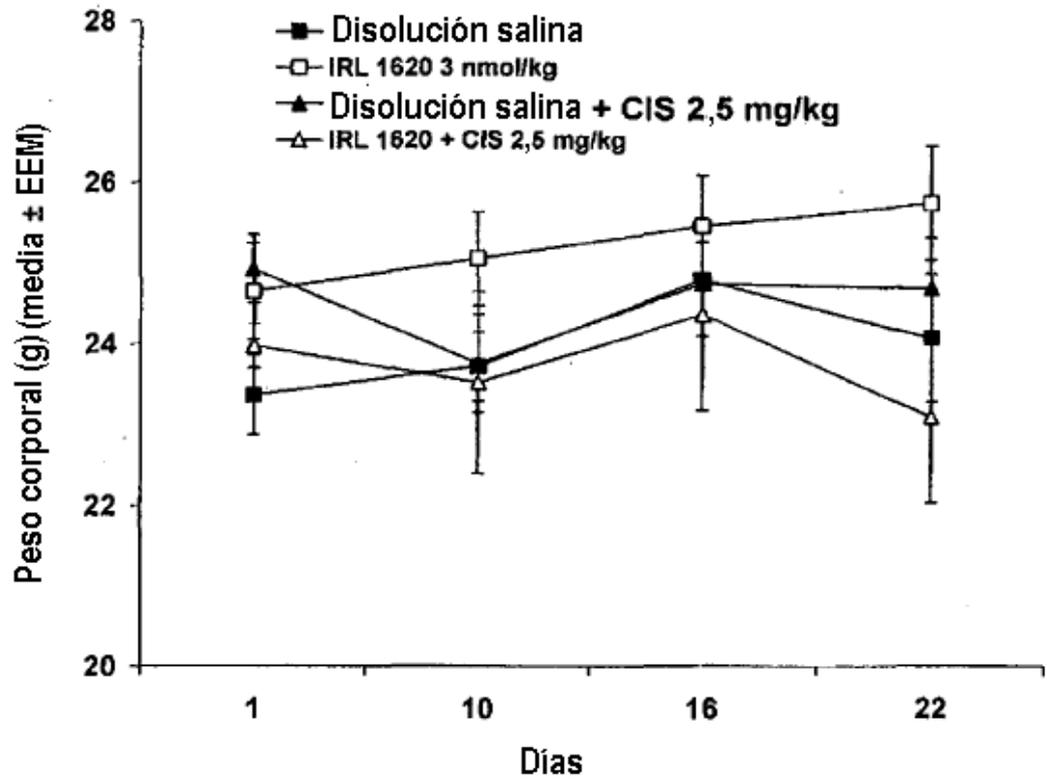


FIG. 3

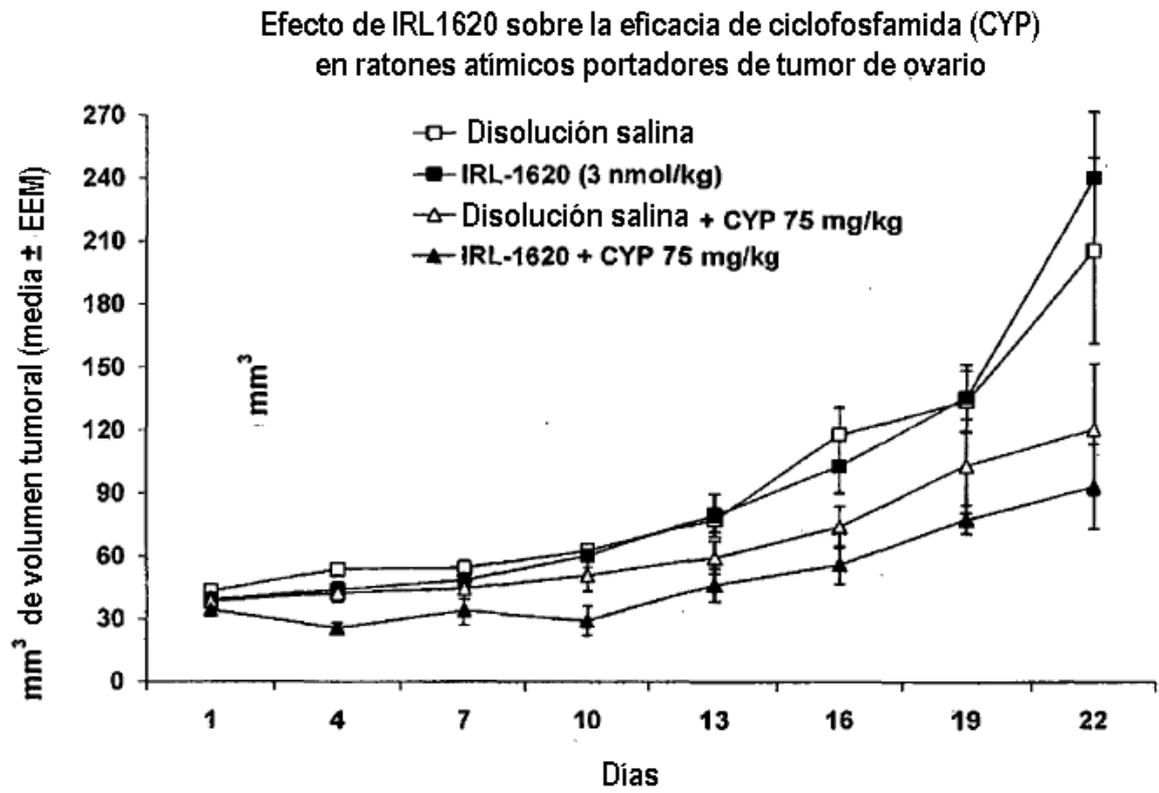


FIG. 4

