

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 500 920**

51 Int. Cl.:

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2008** **E 10174276 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.07.2014** **EP 2263751**

54 Título: **Compuesto de isoxazol para el tratamiento de cánceres gastrointestinales**

30 Prioridad:

12.10.2007 EP 07118421

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

01.10.2014

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**CHENE, PATRICK;
GARCIA-ECHEVERRIA, CARLOS;
JENSEN, MICHAEL RUGAARD;
QUADT, CORNELIA;
RADIMERSKI, THOMAS y
SCHOEPFER, JOSEPH**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 500 920 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

Compuesto de isoxazol para el tratamiento de cánceres gastrointestinales

- 5 La invención se relaciona con el uso de etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la mismo o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato para la manufactura de composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento de cáncer del colon, el hígado, el páncreas, el estómago, el tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal, con etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato para uso en el tratamiento de cáncer del colon, el hígado, el páncreas, el estómago, el tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal. Se describe adicionalmente el tratamiento de animales de sangre caliente incluyendo los humanos que sufren de cáncer de colon, el hígado, el páncreas, el estómago, el tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal, mediante la administración a dicho animal en necesidad de tal tratamiento una dosis efectiva de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazole-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato.
- 10
- 15 Un problema mayor es el manejo de los cánceres de la vejiga, el colon, el hígado, el pulmón, por ejemplo, pleuramesotelioma, por ejemplo de células no pequeñas, por ejemplo de células pequeñas, el seno, los ovarios, el páncreas, el riñón, el estómago, el tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal, la próstata, la cabeza y el cuello, el cerebro, por ejemplo, glioblastoma, sangre, por ejemplo cáncer hematológico, por ejemplo leucemia, por ejemplo, leucemia mieloide aguda, por ejemplo mieloma múltiple y/o melanomas.
- 20 La proteína de choque por calor 90 (Hsp90) es reconocida como un nuevo objetivo contra el cáncer. La Hsp90 es una proteína esencial ubicua, altamente abundante (1-2% de la proteína celular total), que funciona como una chaperona molecular para asegurar la estabilidad conformacional, la forma, y la función de las proteínas clientes. La inhibición de la actividad de ATPasa intrínseca de la Hsp90 altera la interacción de la proteína cliente de Hsp90, que da como resultado su degradación por medio de la ruta del proteasoma de ubiquitina. Un subconjunto de proteínas clientes de Hsp90, tales como Raf, AKT, CDK4 y la familia del EGFR, incluyendo ErbB2, son moléculas de señalización oncogénicas críticamente involucradas en el crecimiento, diferenciación y apoptosis celular, procesos que son fundamentalmente importantes en las células de cáncer. Se cree que la degradación simultánea de múltiples oncoproteínas produce los efectos antitumorales observados con los inhibidores de Hsp90.
- 25
- 30 La familia de Hsp90 chaperonas se compone de cuatro miembros: Hsp90 α y Hsp90 β , ambas localizadas en el citosol, GRP94 en el retículo endoplásmico, y TRAP1 en la mitocondria (Csermely et al., 1998). La Hsp90 (a menos que se indique lo contrario, Hsp90 se refiere a Hsp90 α y Hsp90 β) es la chaperona celular más abundante, que constituye aproximadamente 1% – 2% de la proteína total (Jakob and Buchner, 1994). Entre las proteínas de estrés, la Hsp90 es única debido a que no se requiere para la biogénesis de la mayoría de los polipéptidos (Nathan et al., 1997). Sus objetivos celulares, también llamadas proteínas cliente, son transductores de señales conformacionalmente lábiles que juegan un papel crítico en el control del crecimiento, la supervivencia celular y el desarrollo de tejido (Pratt y Toft, 2003).
- 35
- 40 Las chaperonas Hsp90, las cuales poseen un sitio enlazante de ATP conservado en su dominio terminal N (Chene, 2002) pertenecen a una subfamilia pequeña ATPasa conocida como la subfamilia girasa ADN, Hsp90, Histidina Quinasa y MutL (GHKL) (Dutta e Inouye, 2000). La actividad de chaperona (plegamiento) de Hsp90 depende de su actividad de ATPasa la cual es débil para la enzima aislada. Sin embargo, se ha demostrado que la actividad de ATPasa de Hsp90 se potencia a partir de su asociación con proteínas conocidas como cochaperonas (Kamal et al., 2003). Por consiguiente, *in vivo*, las proteínas Hsp90 funcionan como subunidades de los grandes complejos de proteínas dinámicos. La Hsp90 es esencial para la sobrevivencia celular eucariota, y se sobreexpresa en muchos tumores
- 45
- 50 La etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico es un inhibidor de Hsp90, y su síntesis se describe por ejemplo en la WO 2004/072051, ejemplo 78.
- De manera sorprendente se ha encontrado ahora que la etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato es útil en el tratamiento de cáncer de colon, el hígado, el páncreas, el estómago, el tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal.
- 55 De acuerdo con lo anterior, la presente invención provee el uso de etilamida del ácido 5 (2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato para la manufactura de composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento de cáncer de colon, el hígado, el páncreas, el estómago, el tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal.

5 Se describe además el tratamiento de humanos que sufren de cáncer de colon, del hígado, del páncreas, del estómago, del tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal, lo cual comprende administrar a dicho humano en necesidad de dicho tratamiento de una dosis de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato efectivo contra el cáncer de colon, el hígado, el páncreas, el estómago, el tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal.

10 En un aspecto adicional, la presente invención provee una preparación farmacéutica para uso en el tratamiento de cáncer del colon, del hígado, del páncreas, del estómago, del tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal, que comprende etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 Dependiendo de la especie, la edad, condición individual, modo de administración, y el cuadro clínico en cuestión, dosis efectivas para el ejemplo dosis semanales de aproximadamente 2 a 300 mg, preferiblemente de 50 a 160 mg de etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico se administran a un humano.

20 Se divulga además un método para administrar a un humano que tiene cáncer del colon, del hígado, del páncreas, del estómago, del tracto gastrointestinal, por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal, etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato, que comprende administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva de etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato a un sujeto humano aproximadamente una vez por semana

La siguiente es una descripción a modo de ejemplo solamente.

Ejemplo 1: Efectos *In vitro* de NVP-AUY922 sobre un panel de líneas celulares derivadas de tumores.

25 Se utilizan treinta y siete líneas celulares derivadas de cáncer (BT474, MDA-MB-361, MDA-MB-453, SKBr3, T47D, MCF7, MDA-MB-231, MDA-MB-468, SK-MEL-5, A375, MALME-3M, SK-MEL-28, WM266.4, RPM18226, U266, BE, Colo205, HCT116, HT29, MAWI, RKO, U87MG, HN5, RPMI-8226, A549, MV522, NCI-H1299, NCI-H460, 41 M, A2780, CH1, NCI-N87, SKOV3, PC3, MO7e, GIST882 and Baf3) para probar el efecto de etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico. Las líneas celulares están
30 comercialmente disponibles en American Type Culture Collection (ATCC). Estas líneas celulares cubren los siguientes 12 tipos de cáncer o tumores: seno, melanoma, mieloma múltiple (MM), colon, glioblastoma, cabeza y cuello, leucemia, pulmón, ovario, próstata, estómago y tumor estromal gastrointestinal (GIST). Después de la división y el cambio de medio, las células de cultivo de reserva se siembran en placas de células y son cultivadas durante aproximadamente 18 horas para permitir el crecimiento y la unión celular antes de comenzar el ensayo. En
35 el primer día del ensayo se agrega al medio etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico a varias concentraciones de hasta 10 μ M. Las células son cultivadas hasta 72 ó 96 horas y la proliferación celular se determina usando kits de proliferación celular disponibles comercialmente.

40 La Tabla 1 muestra la concentración (nM) de etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico la cual inhibe la proliferación celular por el 50% (IC₅₀). Las células se expusieron continuamente a la etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico durante bien sea 72 o 96 horas y el crecimiento celular se determinó mediante los kits disponibles comercialmente basados en cualquiera de los métodos de SRB, azul Alamar, azul de metileno o WST-1

Tabla 1

Tipo de Tumor	Línea Celular	IC ₅₀ (nM)
Seno	BT474	2.8
	MDA-MB-361	6
	MDA-MB-453	3.9
	SKBr3	2.3
	T47D	2.6
	MCF7	2.3
	MDA-MB-231	7.7
	MDA-MB-468	3.5
Melanoma	SK-MEL-5	3
	A375	3
	MALME-3M	7.7
	SK-MEL-28	8
	WM266.4	6.2
Mieloma Múltiple (MM)	RPMI8226	36.7
	U266	23.3
Colon	BE	2.8
	Colo205	6.2
	HCT116	16
	HT29	30

Tipo de Tumor	Línea Celular	IC ₅₀ (nM)
	MAWI	50
	RKO	3.1
Glioblastoma	U87MG	6
Cabeza y cuello	HN5	8
Leucemia	RPMI-8226	6.3
Pulmón	A549	11.7
	MV522	8.1
	NCI-H1299	5.7
	NCI-H460	14
Ovario	41M	3
	A2780	6.1
	CH1	2.8
	SKOV3	3.7
Próstata	PC3	5
Estómago	NCI-N87	0.2
Tumor estromal gastrointestinal (GIST)	MO7e	10.6
	GIST882	6.2
	Baf3	22.4

Ejemplo 2: Efectos *In vitro* de la etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico sobre un panel de células tumorales humanas primarias.

5 Se evalúa la actividad anticáncer de la etil-amida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico en 30 xenoinjertos de tumor humano *in vitro*, utilizando un ensayo clonogénico. En este

5 ensayo, se evalúan las células humanas derivadas a partir de pacientes de cáncer, para determinar la capacidad de la etil-amida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico para inhibir la formación de las colonias tridimensionales. Estas consisten en células tumorales que poseen el potencial para el crecimiento independiente del anclaje en un medio semisólido. Los xenoinjertos tumorales, los cuales nunca se han cultivado en platos de plástico de cultivo celular, se aíslan a partir de los ratones lampiños. Se preparan las suspensiones de células tumorales, y se incuban en placas de 24 pozos que contienen capas de agar blando. Bajo estas condiciones, una subpoblación especial de las células crece selectivamente hasta formar colonias. La etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico se probó en 6 concentraciones hasta 10 µM. El panel de prueba de tumor comprende de 1 a 6 modelos de 10 tipos diferentes de tumor o cáncer humanos, los cuales fueron cáncer de vejiga, de colon, de hígado, de pulmón de célula no pequeña (adeno, de epitelio escamoso, y macrocelular), de pulmón de célula pequeña, de seno, de ovario, pancreático, de melanoma, y de pleuramesotelioma. Los efectos antitumorales se registran como la inhibición de la formación de colonias en relación con los controles no tratados. En la Tabla 2 se muestra la concentración que da como resultado una reducción del 50 por ciento en la formación de colonias (IC₅₀). Se ha publicado información adicional sobre el método (Burger et al., 2004; Fiebig et al., 2004; Smith et al., 2005).

La Tabla 2 muestra la concentración (nM) de la etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico que inhibe la formación de colonias por el 50% (IC₅₀). Las células están continuamente expuestas a la etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico y se determina la formación de colonias.

20 Tabla 2

Tipo de Tumor	Modelo de Tumor	Histología	IC ₅₀ (nM)
Vejiga	BXF 1218	Carcinoma de células de transición	27
	BXF 1228	Carcinoma de células de transición	630
Colon	CXF 1103	Adenocarcinoma	13
	CXF 158	Adenocarcinoma	369
	CXF 1729	Carcinoma	467
	CXF 1784	Carcinoma	418
	CXF 609	Adenocarcinoma	55
Hígado	LIXF 575	Carcinoma hepatocelular	34
Pulmón, células no pequeñas	LXFA 297	Adenocarcinoma	28
	LXFA 526	Adenocarcinoma	5
	LXFA 629	Adenocarcinoma	35
	LXFA 983	Adenocarcinoma	126

ES 2 500 920 T3

Tipo de Tumor	Modelo de Tumor	Histología	IC ₅₀ (nM)
	LXFE 1422	Carcinoma de las células escamosas	48
	LXFL 1647	Carcinoma de pulmón de células grandes	34
Pulmón, células pequeñas	LXFS 615	Carcinoma de pulmón de células pequeñas	30
	LXFS 650	Carcinoma de pulmón de células pequeñas	2
Seno	MAXF 1162	Carcinoma ductal invasivo	304
	MAXF 1322	Adenocarcinoma Pap.	29
	MAXF 1384	Adenocarcinoma	209
	MAXF 401	Adenocarcinoma Pap.	78
	MAXF 583	Adenocarcinoma Ductal	333
Melanoma	MEXF 1539	Melanoma	3
	MEXF 462	Melanoma amelanótico	24
	MEXF 535	Melanoma amelanótico	43
	MEXF 672	Melanoma amelanótico	18
	MEXF 989	Melanoma amelanótico	2
Ovario	OVXF 1353	Adenocarcinoma	26
	OVXF 1544	Carcinoma	53
Páncreas	PAXF 1657	Adenocarcinoma	39
Pleuramesotelioma	PXF 1118	Pleuramesotelioma bifásico	223

REIVINDICACIONES

1. Etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato para uso en un método del tratamiento del cáncer de colon, del hígado, del páncreas, del estómago y/o del tracto gastrointestinal.
- 5 2. Etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en un método del tratamiento de cáncer del colon.
3. Etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en un método del tratamiento de cáncer del hígado.
- 10 4. Etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en un método del tratamiento de cáncer del páncreas.
5. Etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en un método del tratamiento de cáncer del estómago.
- 15 6. Etilamida del ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico o un tautómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable o un hidrato o un solvato para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en un método del tratamiento de cáncer del tracto gastrointestinal.