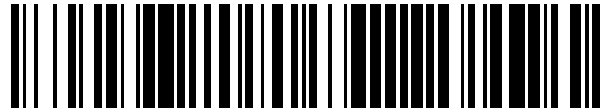


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 517 367**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/445** (2006.01)  
**A61K 31/44** (2006.01)  
**A61K 31/416** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61K 33/24** (2006.01)  
**A61K 31/443** (2006.01)  
**A61K 31/506** (2006.01)  
**A61K 31/513** (2006.01)  
**A61K 31/517** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2010 E 10836725 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.08.2014 EP 2509599**

54 Título: **Procedimiento de tratamiento de cáncer pancreático**

30 Prioridad:

**11.12.2009 US 285676 P**

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

**03.11.2014**

73 Titular/es:

**NIKI PHARMA INC. (100.0%)  
Suite 5D 80 River Street  
Hoboken, New Jersey 07030, US**

72 Inventor/es:

**SHESHBARADARAN, HOOSHMAND**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 517 367 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

Procedimiento de tratamiento de cáncer pancreático

La presente invención se refiere, en general, al tratamiento de cáncer y, particularmente, al tratamiento de cáncer pancreático.

5 El cáncer pancreático es una de las formas de cáncer más letales. En EE. UU, cada año se diagnostica cáncer pancreático a más de cuarenta mil personas, y menos del 5 % de las mismas sobreviven durante más de cinco años después del diagnóstico. La baja tasa de supervivencia se atribuye ampliamente al hecho de que la mayoría de los cánceres pancreáticos no se diagnostican hasta que están en un estado avanzado. El cáncer pancreático es habitualmente asintomático en estado temprano, aunque los síntomas en estado tardío no son específicos y varían, lo que hace difícil un diagnóstico temprano.

La opción de tratamiento de cáncer pancreático es limitada. La cirugía y la radioterapia pueden usarse para el cáncer pancreático en estado temprano, pero no son muy eficaces para un cáncer pancreático avanzado o recurrente. La administración por vía intravenosa semanal de gemcitabina ha demostrado ser eficaz y se aprobó en 1998 por la FDA de EE. UU. para cáncer pancreático.

15 El resultado de numerosos ensayos clínicos de gemcitabina y un segundo agente terapéutico se detallan en Rivera y col., *Cancer Treatment Reviews*, 2009, págs. 335-339.

La FDA de EE. UU también ha aprobado el inhibidor de quinasa erlotinib para usar en combinación con gemcitabina en pacientes con cáncer pancreático en estado avanzado que no han recibido quimioterapia previa. No obstante, el beneficio de supervivencia global media derivado de erlotinib es solo inferior a cuatro semanas. Moore y col., *J. Clin. Oncol.*, 25(15): 1960-6 (2007).

Se ha demostrado que el trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio y el trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio son eficaces en destruir células tumorales en las líneas celulares de cáncer de colon SW480 y HT29. Kapitza y col., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 131(2): 101-10 (2005). No obstante, no se sabe si serían eficaces en el tratamiento de cáncer pancreático.

25 La invención se refiere a las realizaciones tal como se definen en las reivindicaciones.

Se ha descubierto ahora que el compuesto trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio es especialmente eficaz en el tratamiento de cáncer pancreático. Sorprendentemente también se ha descubierto que el compuesto trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio es igualmente eficaz en líneas celulares pancreáticas, tanto sensibles como insensibles a fármacos tales como gemcitabina y erlotinib.

30 En consecuencia, en un primer aspecto, el presente documento proporciona un procedimiento de tratamiento de cáncer pancreático que comprende tratar un paciente identificado con cáncer pancreático con una cantidad terapéuticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 En un segundo aspecto, el presente documento proporciona un procedimiento para prevenir o retrasar la aparición de cáncer pancreático que comprende administrar a un paciente identificado con necesidad de prevención, o retraso de la aparición, de cáncer pancreático una cantidad profilácticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 La presente invención proporciona adicionalmente un uso de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento útil para tratar, prevenir o retrasar la aparición de cáncer pancreático.

1. Uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal farmacéuticamente aceptable de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] para la fabricación de un medicamento para tratar cáncer pancreático.

45 2. Uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal farmacéuticamente aceptable de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] para la fabricación de un medicamento para prevenir o retrasar la aparición de cáncer pancreático.

50 En otro aspecto, el presente documento proporciona un procedimiento para tratar cáncer pancreático resistente que comprende identificar un paciente con cáncer pancreático resistente y tratar al paciente con una cantidad terapéuticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En realizaciones específicas, el paciente tiene un cáncer pancreático que es resistente a un tratamiento que comprende uno o más fármacos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina, erlotinib, mitomicina C y agentes de platino.

3. El uso según el punto 1, en el que dicho tratamiento es útil para prevenir o retrasar la aparición de un cáncer pancreático resistente.

4. El uso según el punto 3, en el que dicho cáncer es resistente a un tratamiento que comprende uno o más de gemcitabina y erlotinib.

5 5. El uso según el punto 3, en el que dicho cáncer se ha tratado previamente con, y no responde a, un tratamiento que comprende uno o más de gemcitabina y erlotinib.

6. El uso según el punto 3, en el que dicho cáncer es cáncer pancreático que reincide después de un tratamiento previo que comprende uno o más de gemcitabina y erlotinib.

7. El uso según uno cualquiera de los puntos 4-6, en el que dicho tratamiento previo comprende gemcitabina.

10 8. El uso según uno cualquiera de los puntos 4-6, en el que dicho tratamiento previo comprende erlotinib.

9. El uso según uno cualquiera de los puntos 1-8, en el que dicha sal farmacéuticamente aceptable es trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio.

15 Las ventajas anteriores y otras y características de la invención y el modo en el que se consiguen las mismas serán más fácilmente aparentes al considerar la siguiente descripción detallada de la invención tomada en conjunto con los ejemplos adjuntos, que ilustran realizaciones preferentes y ejemplares.

La figura 1 es un gráfico que muestra la inhibición del crecimiento dependiente de la dosis por trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio (ensayo de MTT) en un modelo de tumor tridimensional (HuBiogel, Vivo Biosciences, Birmingham, AL) derivado de una línea celular del tumor pancreático MIA PaCa2.

20 La presente invención se basa al menos en parte en el descubrimiento de que el compuesto trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio es especialmente eficaz en el tratamiento de cáncer pancreático. En consecuencia, según un primer aspecto de la presente divulgación se proporciona un procedimiento para tratar cáncer pancreático. Específicamente, el procedimiento comprende tratar a un paciente que tiene cáncer pancreático con una cantidad terapéuticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Es decir, la presente invención se dirige al uso de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de medicamentos para tratar cáncer pancreático en  
25 pacientes identificados con cáncer o que se les ha diagnosticado cáncer pancreático.

30 En las diversas realizaciones de este aspecto de la presente divulgación, el procedimiento de tratamiento también comprende opcionalmente una etapa de diagnóstico o identificación de un paciente que tiene cáncer pancreático. El paciente identificado se trata después con, o se le administra, una cantidad terapéuticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] (p. ej. trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio. El cáncer pancreático puede diagnosticarse con cualquier procedimiento de diagnóstico convencional conocido en la técnica, incluyendo ultrasonidos, tomografía computerizada, RMN, ultrasonidos endoscópicos, análisis de CA19-9 (antígeno de carbohidratos 19.9) y biopsia (p. ej. biopsia con agujas percutáneas).

35 Además, sorprendentemente también se ha descubierto que el compuesto trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio es igualmente eficaz en líneas celulares de cáncer pancreático, tanto sensibles como insensibles a fármacos tales como gemcitabina y erlotinib. En consecuencia, el presente documento proporciona un procedimiento para tratar cáncer pancreático resistente que comprende tratar a un paciente identificado con cáncer pancreático resistente con una cantidad terapéuticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] (p. ej. trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio. En realizaciones específicas, el paciente tiene un cáncer pancreático que es resistente a un tratamiento que comprende uno o más fármacos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina, erlotinib, mitomicina C y agentes de platino (p. ej. cisplatino, carboplatino, oxaliplatino), docetaxel, 5-FU y capecitabina. Es decir, la presente invención también se dirige al uso de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (p. ej. trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio) para la fabricación de medicamentos para tratar cáncer pancreático resistente, p. ej. un cáncer  
40 pancreático resistente a uno o más fármacos seleccionados de gemcitabina, erlotinib, docetaxel, mitomicina C, agentes de platino (cisplatino, carboplatino, oxaliplatino), 5-FU y capecitabina.

50 La expresión "cáncer pancreático resistente", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cáncer pancreático que bien no responde favorablemente a un tratamiento antineoplásico que no incluye trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)], o bien, alternativamente, recidiva o recurre después de responder favorablemente a un tratamiento antineoplásico que no incluye trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)]. En consecuencia, "un cáncer pancreático resistente a un tratamiento", tal como se usa en el presente documento significa un cáncer que no responde favorablemente al tratamiento o es insensible al tratamiento, o  
55 alternativamente, recidiva o recurre después de responder favorablemente al tratamiento.

Por tanto, en algunas realizaciones, en el procedimiento de la presente divulgación se usa trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para tratar pacientes con cáncer pancreático que tienen un tumor que muestra resistencia a un tratamiento que comprende uno o más fármacos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina, erlotinib, mitomicina C, docetaxel, agentes de platino (cisplatino, carboplatino, oxaliplatino), 5-FU y capecitabina. En otras palabras, el procedimiento se usa para tratar un paciente con cáncer pancreático que se ha tratado previamente con un régimen de tratamiento que incluye uno o más fármacos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina, erlotinib, mitomicina C, docetaxel, agentes de platino (cisplatino, carboplatino, oxaliplatino), 5-FU y capecitabina, y cuyo cáncer pancreático se ha encontrado que no responde al régimen de tratamiento o ha desarrollado resistencia al régimen de tratamiento. En otras realizaciones, el procedimiento se usa para tratar a un paciente con cáncer pancreático tratado previamente con un tratamiento que comprende uno o más fármacos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina, erlotinib, mitomicina C, docetaxel, agentes de platino (cisplatino, carboplatino, oxaliplatino), 5-FU y capecitabina, pero el cáncer pancreático ha recidivado o recurrido, es decir, un paciente con cáncer pancreático que se ha tratado previamente con uno o más de dichos fármacos, y cuyo cáncer ha respondido inicialmente a uno o más de dichos fármacos administrados previamente, pero posteriormente se ha encontrado que ha recurrido. En realizaciones específicas, se usa trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio para tratar pacientes con cáncer pancreático que se han tratado previamente con gemcitabina, es decir, que tienen un tumor que muestra resistencia a un tratamiento, o recurre después de un tratamiento que incluye gemcitabina. En otras realizaciones específicas se usa trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio para tratar pacientes con cáncer pancreático que se ha tratado previamente con erlotinib, es decir, que tienen un tumor que muestra resistencia a, o recurre después de, un tratamiento que incluye erlotinib. En todavía otras realizaciones específicas, se usa trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio para tratar pacientes con cáncer pancreático tratados previamente con un agente citotóxico de platino (p. ej., cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, picoplatino), es decir, que tienen un tumor que muestra resistencia a, o recidive después de un tratamiento que incluye un agente citotóxico de platino (p. ej., cisplatino, carboplatino, picoplatino u oxaliplatino). En todavía otras realizaciones específicas se usa trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio para tratar pacientes con cáncer pancreático tratados previamente con 5-FU o capecitabina, es decir, que tienen un cáncer pancreático que muestra resistencia a, o recidive después de, un tratamiento que incluye mitomicina C. En todavía otras realizaciones específicas, se usa trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio para tratar pacientes con cáncer pancreático tratados previamente con mitomicina C, es decir, que tienen un cáncer pancreático que muestra resistencia a, o recidive después de, un tratamiento que incluye mitomicina C.

Para detectar un cáncer pancreático resistente, se realiza un seguimiento cuidadoso de los pacientes que se someten a un tratamiento inicial para detectar signos de resistencia, no respuesta o un cáncer pancreático recurrente. Esto puede realizarse haciendo un seguimiento de la respuesta del cáncer del paciente al tratamiento inicial, que puede incluir, por ejemplo, uno o más fármacos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina, erlotinib, mitomicina C, docetaxel, agentes de platino (cisplatino, carboplatino, oxaliplatino), 5-FU y capecitabina. La respuesta, la falta de respuesta o la recidiva del cáncer al tratamiento inicial pueden determinarse mediante cualquier procedimiento adecuado practicado en la técnica. Por ejemplo, esto puede realizarse evaluando el tamaño y el número de tumores. Un aumento en el tamaño del tumor, alternativamente, en el número de tumores, indica que el tumor no responde a la quimioterapia, o que ha tenido lugar una recidiva. La determinación puede realizarse según los criterios de "RECIST", como se describe con detalle en Therasse y col., *J. Natl. Cancer Inst.* 92:205-216 (2000).

Según todavía otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un procedimiento para prevenir o retrasar la aparición de cáncer pancreático, o prevenir o retrasar la recurrencia de cáncer pancreático, que comprende tratar un paciente con necesidad de prevención o retraso con una cantidad profilácticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (p. ej. trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio).

Se sabe ahora que las personas con pancreatitis crónica tienen un mayor riesgo de desarrollar cáncer pancreático. Además, las personas que tiene síndromes genéticos también están predispuestos a desarrollar cáncer pancreático, incluidos los que tienen ataxia-telangiectasia autosómica recesiva y mutaciones heredadas de forma dominante autosómicas en el gen BRCA2 o el gen PALB2, mutaciones debidas al síndrome de Peutz-Jeghers en el STK11, cáncer de colon de no poliposis hereditario (HNPCC), poliposis adenomatosa familiar (FAP) y el síndrome de cáncer pancreático-melanoma de nevo múltiple atípico familiar (FAMMM-PC) debido a mutaciones en el gen CDKN2A. Todas estas personas pueden ser candidatas para prevenir o retrasar la aparición de cáncer pancreático usando una cantidad profilácticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (p. ej. trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio). Además, los pacientes con un historial familiar de cáncer pancreático también pueden identificarse para la aplicación del presente procedimiento de prevención o retraso de la aparición de cáncer pancreático.

Para fines de prevención o retraso de la recurrencia de cáncer pancreático, los pacientes con cáncer pancreático que han sido tratados y están en remisión o en un estado estable o exentos de progresión pueden tratarse con una cantidad profilácticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente

aceptable del mismo (p. ej. trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio) para prevenir o retrasar la recurrencia o la recidiva de cáncer pancreático.

En la presente invención, cáncer pancreático se refiere a cáncer pancreático exocrino, tal como adenocarcinomas, carcinomas adenoescamosos, carcinomas de células en anillo de sello, carcinomas hepatoides, carcinomas coloidales, carcinomas no diferenciados y carcinomas no diferenciados con células gigantes semejantes a osteoclastos.

Tal como se usa en el presente documento, la frase "que se trata...con..." o una paráfrase de la misma significa administrar un compuesto al paciente o provocar la formación de un compuesto en el cuerpo de un paciente.

Según la presente invención, se usa una cantidad terapéuticamente eficaz de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (p. ej. trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio) solo como un único agente, o alternativamente en combinación con uno o más agentes antineoplásicos diferentes.

Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo sal de sodio o de potasio), sales de indazolio, etc. Una sal de metal alcalino, preferentemente una sal de sodio de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] (es decir, trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de potasio) es particularmente útil.

Pueden prepararse sales de metales alcalinos de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] mediante cualesquiera procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la publicación PCT n.º WO/2008/154553 da a conocer un procedimiento eficaz de preparación de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio. La patente de EE. UU. n.º 7.338.946 divulga trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio y una formulación que contiene la sal de indazolio.

Los compuestos farmacéuticos tales como una sal farmacéuticamente aceptable de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] (p. ej. , trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio) pueden administrarse mediante inyección por vía intravenosa o cualquier otro medio adecuado en una cantidad de 0,1 mg a 1000 mg por kg de peso corporal del paciente en función del peso corporal total. Los ingredientes activos pueden administrarse de una vez o puede dividirse en un número de dosis pequeñas que se administrarán a intervalos de tiempo predeterminados, por ejemplo una vez al día o una vez cada dos días. Debe entenderse que los intervalos de dosificación establecidos anteriormente son solo ejemplares y no pretenden limitar el alcance de la presente invención. La cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto activo puede variar con factores que incluyen, pero sin limitación, la actividad del compuesto usado, la estabilidad del compuesto activo en el cuerpo del paciente, la gravedad de las afecciones que se están aliviando, el peso total del paciente tratado, la vía de administración, la facilidad de absorción, distribución y excreción del compuesto activo por el cuerpo, la edad y sensibilidad del paciente que se está tratando, y similares, como será evidente para el experto. La cantidad de administración puede ajustarse si los diversos factores cambian con el transcurso del tiempo.

Según la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto que tiene trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (p. ej. una sal de metal alcalino de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] tal como trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de potasio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio) para la fabricación de un medicamento útil para tratar el cáncer pancreático. El medicamento puede estar, por ejemplo, en una forma inyectable, por ejemplo, adecuada para la administración por vía intravenosa, intradérmica o intramuscular. Las formas inyectables son conocidas, en general, en la técnica, por ejemplo en solución o suspensión tamponada.

Según otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un kit farmacéutico que comprende en un recipiente una forma de dosificación unidad de un compuesto que contiene trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo una sal de metal alcalino de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] tal como trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de potasio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio) y opcionalmente instrucciones para usar el kit en los procedimientos según la presente divulgación, por ejemplo, tratar, prevenir o retrasar la aparición de cáncer pancreático o prevenir o retrasar la recurrencia de cáncer pancreático, o tratar cáncer pancreático resistente. Como será evidente para el experto, la cantidad de un compuesto terapéutico en forma de dosificación unidad se determina mediante la dosificación que se va a usar en un paciente en los procedimientos de la presente divulgación. En el kit, un compuesto que tiene trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo una sal de metal alcalino de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] tal como trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de potasio o trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de indazolio) puede estar en una forma liofilizada en una cantidad de, por ejemplo, 25 mg, en una ampolla. En la clínica, la forma liofilizada puede disolverse en un tampón y administrarse a un paciente con necesidad de tratamiento según la presente divulgación.

## Ejemplo

El compuesto trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio se analizó en un modelo de tumor tridimensional derivado de una línea celular de tumor pancreático MIA PaCa2. Específicamente, las células se tripsinizaron, se lavaron, se contaron mediante exclusión de azul de tripano. Las perlas tumorales se prepararon después mezclando 20.000 células/10 µl de HuBiogel (4 mg/ml) (véase la solicitud de patente de EE. UU con n.º de serie 10/546.506.

5 Las perlas tumorales tridimensionales se cultivaron durante 72 horas en placas multipocillo con medio completo (10 % de FBS) en una incubadora a 37 °C + 5 % de CO<sub>2</sub>. Los minitumores se trataron con diversas concentraciones del compuesto de ensayo trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio en medio (final: 0,2-0,3 % de DMSO) o control (DMSO). El tratamiento con el fármaco repetido se realizó eliminando el medio de cultivo y reemplazándolo con medio reciente con compuesto farmacológico o DMSO. El día 3, se realizó el ensayo MTT y la tinción de células vivas con calceína AM (conjunto de 5 perlas/ensayo).

10 El trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio mostró que destruía tumores de un modo dependiente de la dosis de forma eficaz en el análisis de tinción/imagen de células vivas y una actividad de proliferación de tumores significativamente inhibida. Véase figura 1. El análisis estadístico de conjuntos de datos (promedio, ensayo en T, GI-50) se realizó usando un programa MS-Excel. Los resultados del ensayo en T se muestran en siguiente tabla 1. La GI-50 promedio (la concentración de fármaco requerida para una inhibición del crecimiento del 50 %) es de 35,73 µM.

Tabla 1

Ensayo en T	200	100	50
MIA-PaCa (control frente a experimento)	5,71322E-09	6,01707E-10	3,35631E-08
	control frente a 200 µM	control frente a 100 µM	control frente a 50 µM

### Ejemplo 2

20 Para analizar las actividades del trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio, se realizó un ensayo de proliferación celular MTT de ATCC usando líneas celulares de cáncer pancreático humano PANC-1 y Capan-1. Los cultivos madre se dejaron proliferar a una confluencia del 70-80 % para este estudio. La actividad antiproliferativa del trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio frente a las líneas celulares indicadas se evaluó *in vitro* usando el ensayo de proliferación celular MTT de ATCC (n.º de catálogo 30-1010K). Las células PANC-1 se cultivaron en medio DMEM con el 10 % de FBS y el 1 % de pen/strep/glutamina. Las células Capan-1 se cultivaron usando medio IMDM con el 20 % de FBS y el 1 % de pen/strep/glutamina. Las placas con células Panc-1 y Capan-1 se sembraron con 6.000 células/pocillo y 15.000 células/pocillo, respectivamente, y se trataron con trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio a una concentración 1.000 µM, o una serie de 4 x diluciones del mismo (250 µM, 62,5 µM, etc.). Se eliminaron 100 µl de medio de cada pocillo a las 72 horas después del tratamiento y se añadieron a cada pocillo 10 µl de reactivo MTT. Las placas se incubaron a 37 °C durante 4 horas y después se añadieron 100 µl de detergente. Las placas se dejaron durante la noche a temperatura ambiente en la oscuridad y se leyó en un lector de placas usando SoftMax® Pro (versión 5.2, Molecular Devices).

35 Los datos de absorbancia se analizaron como sigue: Los valores de absorbancia se convirtieron en porcentaje de control y se representaron frente a concentraciones de agente de ensayo para los cálculos de CI<sub>50</sub> usando SoftMax® Pro (versión 5.2, Molecular Devices). La señal de blanco promedio de la placa se sustrajo de todos los pocillos antes de calcular el porcentaje de control. Los valores de porcentaje de control se calcularon dividiendo los valores de absorbancia para cada pocillo de ensayo entre el número promedio de control de fármaco (columna 11 valores; células + vehículo de control) y multiplicando por 100. Las gráficas de concentración de compuesto frente al porcentaje de control se analizaron usando una ecuación de 4 parámetros para obtener los valores de CI<sub>50</sub> y otros parámetros que describen la curva de respuesta a la dosis sigmoideal.

40 Los valores de CI<sub>50</sub> para los agentes de ensayo se estimaron mediante el ajuste de curva de los datos usando la ecuación logística de cuatro parámetros siguiente:

$$Y = \frac{\text{Superior} - \text{Inferior}}{1 + \left(\frac{X}{CI_{50}}\right)^n} + \text{Inferior}$$

45 en la que "superior" es el % máximo de control de absorbancia (100 %), "inferior" es el % mínimo de control de absorbancia en la concentración de agente más elevada (tiende a cero), Y es el porcentaje de control de la absorbancia, X es la concentración del agente de ensayo, CI<sub>50</sub> es la concentración de agente que inhibe el crecimiento celular en un 50 % en comparación con las células de control, n es la pendiente de la curva. La CI<sub>50</sub> del

trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio en líneas celulares PANC-1 y Capan-1 fue de 30,6  $\mu\text{M}$  y 45,2  $\mu\text{M}$ , respectivamente.

Tabla 2

Línea celular	CI <sub>50</sub>
Panc-1	30,6 $\mu\text{M}$
Capan-1	45,2 $\mu\text{M}$

- 5 Se sabe que las células PANC-1 son resistentes tanto a gemcitabina como a erlotinib. Véase Guo y col., *Tumori.*, 95:796-803 (2009), Durkin y col, *Am. J. Surg.*,186:43-436 (2003). Por tanto, el compuesto trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio es activo en células resistentes a gemcitabina y erlotinib.

Todas las publicaciones y solicitudes de patente mencionadas en la memoria descriptiva son indicativas del nivel de los expertos en la técnica a los que atañe la presente invención.

- 10 La mera mención de las publicaciones y solicitudes de patente no constituye necesariamente una admisión de que estas son técnica anterior de la presente solicitud.

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal farmacéuticamente aceptable de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] para la fabricación de un medicamento para tratar cáncer pancreático.
- 5 2. Uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal farmacéuticamente aceptable de trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] para la fabricación de un medicamento para prevenir o retrasar la aparición de cáncer pancreático.
3. El uso según la reivindicación 1, en el que dicho tratamiento es para prevenir o retrasar la aparición de un cáncer pancreático resistente.
- 10 4. El uso según la reivindicación 3, en el que dicho cáncer es resistente a un tratamiento que comprende uno o más de gemcitabina y erlotinib.
5. El uso según la reivindicación 3, en el que dicho cáncer se ha tratado previamente con, y no responde a, un tratamiento que comprende uno o más de gemcitabina y erlotinib.
6. El uso según la reivindicación 3, en el que dicho cáncer es cáncer pancreático que reincide después de un tratamiento previo que comprende uno o más de gemcitabina y erlotinib.
- 15 7. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-6, en el que dicho tratamiento previo comprende gemcitabina.
8. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-6, en el que dicho tratamiento previo comprende erlotinib.
9. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que dicha sal farmacéuticamente aceptable es trans[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)] de sodio.

20



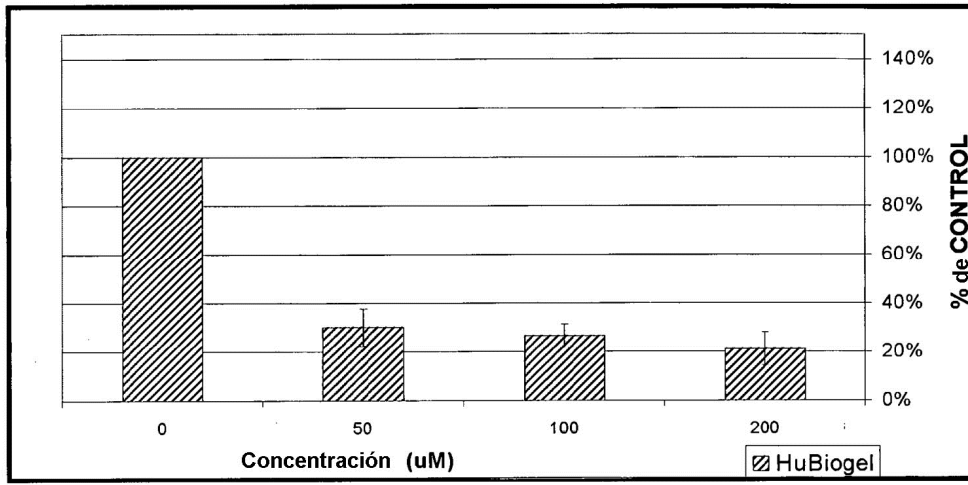


Figura 1