

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 026**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4155 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.2010 E 10822733 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.01.2015 EP 2485593**

54 Título: **Combinación**

30 Prioridad:

08.10.2009 US 249803 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.03.2015

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)
Corporation Service Company, 2711 Centreville
Road, Suite 400
Wilmington, Delaware 19808, US**

72 Inventor/es:

**DUMBLE, MELISSA;
GILMER, TONA;
KUMAR, RAKESH;
LAQUERRE, SYLVIE;
LEBOWITZ, PETER F. y
MORRIS, SHANNON RENAE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 532 026 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

Combinación

Campo de la invención

La presente invención se refiere a una combinación para usar en el tratamiento del cáncer en un mamífero. En particular, el método se refiere a una nueva combinación que comprende el inhibidor de B-Raf: *N*-{3-[5-(2-Amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y el inhibidor de Akt: *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, composiciones farmacéuticas que comprenden los mismos, y dichas combinaciones para usar en el tratamiento del cáncer.

Antecedentes de la invención

El tratamiento eficaz de trastornos hiperproliferativos, incluyendo el cáncer, es un objetivo constante en el campo de la oncología. Generalmente, el cáncer se produce por una desregulación de los procesos normales que controlan la división celular, la diferenciación y la muerte celular apoptótica. La apoptosis (muerte celular programada) juega papeles esenciales en el desarrollo embrionario y en la patogénesis de diversas enfermedades tales como enfermedades neuronales degenerativas, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Una de las rutas más estudiadas habitualmente, que implica la regulación por quinasas de la apoptosis, es la señalización celular desde receptores de factores de crecimiento en la superficie celular al núcleo (Crews y Erikson, *Cell*, 74:215-17, 1993).

La familia de enzimas de las proteína quinasas es una gran e importante familia de enzimas. Se conocen aproximadamente 500 proteína-quinastas distintas. Las proteína quinasas sirven para catalizar la fosforilación de la cadena lateral de un aminoácido de diversas proteínas, mediante la transferencia del γ -fosfato del complejo ATP-Mg²⁺ a dicha cadena lateral de aminoácido. Estas enzimas controlan la mayoría de los procesos de señalización dentro de las células, gobernando así la función celular, su crecimiento, diferenciación y destrucción (apoptosis) a través de la fosforilación reversible de los grupos hidroxilo de los radicales de serina, treonina y tirosina de las proteínas. Diversos estudios han demostrado que las proteína quinasas son reguladores clave de muchas funciones celulares, entre ellas la transducción de señales, la regulación transcripcional, la motilidad celular y la división celular. También se ha demostrado que varios oncogenes codifican proteína quinasas, lo que sugiere que las quinasas desempeñan un papel en la oncogénesis. Estos procesos están sumamente regulados, a menudo a través de rutas interrelacionadas complejas, en donde cada quinasa está a su vez regulada por una o más quinasas. Por consiguiente, la actividad de proteína quinasas aberrante o inadecuada puede contribuir al aumento de las enfermedades asociadas con dicha actividad aberrante de quinasa incluyendo trastornos proliferativos benignos y malignos, así como a enfermedades que resultan de la activación inadecuada de los sistemas inmunitario y nervioso. Debido a su importancia fisiológica, a su variedad y a su ubicuidad, las proteína quinasas se han convertido en una de las familias de enzimas más importantes y más ampliamente estudiadas en la investigación bioquímica y médica.

La familia de enzimas de las proteína quinasas se clasifica típicamente en dos subfamilias principales: las proteína quinasas de tirosina y las proteína quinasas de serina/treonina, dependiendo del radical de aminoácido que fosforilen. Las proteína quinasas de serina/treonina (siglas inglesas PSTK) incluyen proteína quinasas dependientes de AMP-cíclico y de GMP-cíclico, proteína quinasas dependientes de calcio y de fosfolípidos, proteína quinasas dependientes de calcio y de calmodulina, quinasas de caseína, proteína quinasas del ciclo de división celular, y otras. Estas quinasas normalmente son citoplasmáticas o están asociadas con las fracciones celulares que contienen partículas, posiblemente por medio del anclaje de proteínas. Se ha implicado la actividad aberrante de proteína quinasas de serina/treonina, o se ha sospechado su implicación, en diversas patologías tales como la artritis reumatoide, psoriasis, choque séptico, osteopenia, muchos cánceres, y otras enfermedades proliferativas. Por consiguiente, las quinasas de serina/treonina y las rutas de transducción de señales de las cuales forman parte constituyen objetivos importantes para el diseño de fármacos. Las tirosina quinasas fosforilan restos de tirosina. Las tirosina quinasas desempeñan un papel igualmente importante en la regulación celular. Estas quinasas incluyen varios receptores para moléculas tales como factores de crecimiento y hormonas, entre ellos el receptor de factor de crecimiento epidérmico, receptor de insulina, receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas, y otros. Diversos estudios han indicado que muchas tirosina quinasas son proteínas transmembrana que tienen sus dominios de receptor situados en el exterior de la célula, y sus dominios de quinasa en el interior. También se está desarrollando mucho trabajo para identificar moduladores de tirosina quinasas.

Se sabe que la quinasa proteína quinasa activada por mitógeno (MAP)/quinasa regulada por señales extracelulares (ERK) (en lo sucesivo denominada MEK) está implicada en la regulación de la proliferación celular como una quinasa que media la ruta de transducción de señales Raf-MEK-ERK, y la familia Raf (B-Raf, C-Raf etc.) activa la familia MEK (MEK-1, MEK-2 etc.) y la familia MEK activa la familia ERK (ERK-1 y ERK-2).

La activación de la ruta de transducción de señales Raf-MEK-ERK en el cáncer, en particular en el cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama y similares, se ha observado con frecuencia.

Las mutaciones que ocurren de forma natural en la quinasa B-Raf que activa la señalización de la ruta MAPK se han encontrado en un porcentaje grande de melanomas humanos (Davies (2002), véase antes) y cánceres de tiroides (Cohen et al., *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) 95(8) 625-627 y Kimura et al., *Cancer Res.* (2003) 63(7) 1454-1457). En virtud de la función que tienen las quinasas de la familia Raf en estos cánceres y estudios de exploración con una variedad de agentes preclínicos y terapéuticos, incluyendo uno dirigido selectivamente a la inhibición de la actividad de la quinasa B-Raf (King A.J., et al., (2006) *Cancer Res.* 66:11100-11105), se acepta en general que los inhibidores de las quinasas de la familia Raf serán útiles para el tratamiento de dichos cánceres u otra afección asociada con la quinasa Raf.

La apoptosis (muerte celular programada) juega papeles esenciales en el desarrollo embrionario y en la patogénesis de diversas enfermedades tales como enfermedades neuronales degenerativas, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Un trabajo reciente ha conducido a la identificación de diversos productos génicos pro- y anti-apoptóticos que están implicados en la regulación o ejecución de la muerte celular programada. La expresión de genes anti-apoptóticos, tales como Bcl2 o Bcl-x_L, inhibe la muerte celular apoptótica inducida por diversos estímulos. Por otra parte, la expresión de genes pro-apoptóticos, tales como Bax o Bad, conduce a la muerte celular programada (Adams et al. *Science*, 281:1322-1326 (1998)). La ejecución de la muerte celular programada está mediada por proteinasas relacionadas con la caspasa-1, incluyendo la caspasa-3, caspasa-7, caspasa-8 y caspasa-9, etc. (Thornberry et al. *Science*, 281:1312-1316 (1998)).

La ruta de la fosfatidilinositol 3'-OH quinasa (PI3K)/Akt/PKB parece importante para regular la supervivencia celular/muerte celular (Kulik et al. *Mol.Cell.Biol.* 17:1595-1606 (1997); Franke et al. *Cell*, 88:435-437 (1997); Kauffmann-Zeh et al. *Nature* 385:544-548 (1997), Hemmings *Science*, 275:628-630 (1997); Dudek et al., *Science*, 275:661-665 (1997)). Ciertos factores de supervivencia, tales como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento nervioso (NGF) y el factor de crecimiento semejante a insulina-1 (IGF-I), promueven la supervivencia celular en diversas condiciones induciendo la actividad de PI3K (Kulik et al. 1997, Hemmings 1997). La PI3K activada conduce a la producción de fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PtdIns (3,4,5)-P3) que, a su vez, se une y promueve la activación de la serina/treonina quinasa Akt, que contiene un dominio de homología a pleckstrina (PH) (Franke et al., *Cell*, 81:727-736 (1995); Hemmings *Science*, 277:534 (1997); Downward, *Curr. Opin. Cell Biol.* 10:262-267 (1998), Alessi et al., *EMBO J.* 15: 6541-6551 (1996)). Los inhibidores específicos de PI3K o mutantes de Akt/PKB dominantes negativos anulan las actividades promotoras de la supervivencia de estos factores de crecimiento o citoquinas. Previamente se ha descrito que los inhibidores de PI3K (LY294002 o wortmanina) bloqueaban la activación de Akt/PKB por quinasas corriente arriba. Además, la introducción de mutantes PI3K o Akt/PKB constitutivamente activos promueve la supervivencia celular en condiciones en las que las células normalmente experimentan muerte celular apoptótica (Kulik et al. 1997, Dudek et al. 1997).

El análisis de los niveles de Akt en tumores humanos demostró que Akt2 es expresado en exceso en un número significativo de cánceres de ovario (J. Q. Cheung et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:9267-9271(1992)) y páncreas (J. Q. Cheung et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93:3636-3641 (1996)). De igual forma, se descubrió que Akt3 es expresado en exceso en líneas celulares de cáncer de mama y de próstata (Nakatani et al. *J. Biol.Chem.* 274:21528-21532 (1999)). Se demostró que Akt-2 era expresado en exceso en 12% de los carcinomas de ovario y que la amplificación de Akt era especialmente frecuente en 50% de los tumores indiferenciados, lo cual sugería que Akt también puede estar asociada con la agresividad de los tumores (Bellacosa, et al., *Int. J. Cancer*, 64, páginas 280-285, 1995). Se ha descrito una mayor actividad de quinasa Akt1 en cánceres de mama, ovario y próstata (Sun et al. *Am. J. Pathol.* 159: 431-7 (2001)).

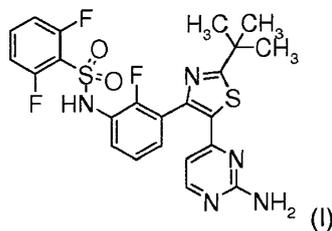
El supresor tumoral PTEN, una fosfatasa de proteínas y lípidos que elimina específicamente el 3'-fosfato de PtdIns(3,4,5)-P3, es un regulador negativo de la ruta PI3K/Akt (Li et al. *Science* 275:1943-1947 (1997), Stambolic et al. *Cell* 95:29-39 (1998), Sun et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96:6199-6204 (1999)). Ciertas mutaciones en la línea germinal de PTEN son responsables de síndromes de cáncer humano tales como la enfermedad de Cowden (Liaw et al. *Nature Genetics* 16:64-67 (1997)). PTEN está suprimido en un gran porcentaje de tumores humanos y las líneas de células tumorales sin PTEN funcional mostraron niveles elevados de Akt activada (Li et al. supra, Guldborg et al. *Cancer Research* 57:3660-3663 (1997), Risinger et al. *Cancer Research* 57:4736-4738 (1997)).

Estas observaciones demuestran que la ruta de PI3K/Akt tiene funciones importantes para regular la supervivencia celular o apoptosis en la tumorigénesis y/o el cáncer.

Sería útil proporcionar una nueva terapia que proporcione tratamiento más eficaz y/o potenciado de un individuo que padece los efectos del cáncer.

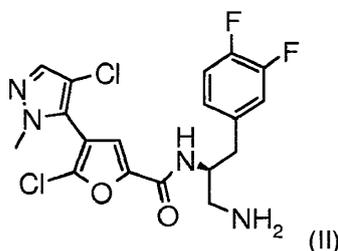
Una realización de esta invención proporciona una combinación que comprende:

(i) un compuesto de estructura (I):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y

5 (ii) un compuesto de estructura (II):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 Una realización de esta invención proporciona una combinación para usar en el tratamiento del cáncer en un ser humano que lo necesite, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una sal farmacéuticamente aceptable, adecuadamente la sal de metanosulfonato de la misma, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable, adecuadamente la sal de hidrocloreto de la misma.

15 Una realización de esta invención proporciona una combinación para usar en el tratamiento del cáncer en un ser humano que lo necesite, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una sal farmacéuticamente aceptable, adecuadamente la sal de metanosulfonato de la misma, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable, adecuadamente la sal de hidrocloreto de la misma.

20 en donde la combinación se administra en un periodo especificado, y

en donde la combinación se administra durante un periodo de tiempo.

25 Una realización de esta invención proporciona una combinación para usar en el tratamiento del cáncer en un ser humano que lo necesite, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una sal farmacéuticamente aceptable, adecuadamente la sal de metanosulfonato de la misma, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable, adecuadamente la sal de hidrocloreto de la misma.

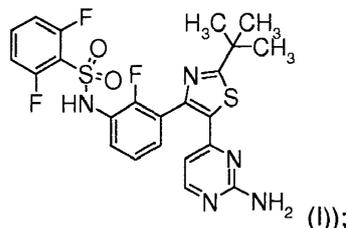
en donde los compuestos de la combinación se administran de forma secuencial.

Descripción detallada de la invención

30 La presente invención se refiere a combinaciones que presentan actividad antiproliferativa. Adecuadamente, la invención se refiere a una combinación para usar en el tratamiento del cáncer que comprende *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una sal farmacéuticamente aceptable, adecuadamente la sal de metanosulfonato de la misma, (en lo sucesivo el compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable, adecuadamente la sal de metanosulfonato del mismo,

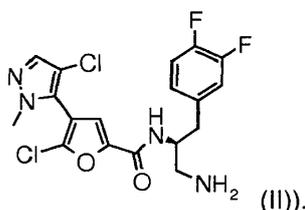
35

cuyo compuesto está representado por la estructura I:



y *N*-((1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil)-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, (en lo sucesivo compuesto B o una de sus sales farmacéuticamente aceptable,

cuyo compuesto está representado por la estructura II:



El compuesto A se describe y reivindica, junto con sus sales farmacéuticamente aceptables, como útil como un inhibidor de la actividad de B-Raf, en particular en el tratamiento del cáncer, en la solicitud internacional nº PCT/US2009/042682, que tiene una fecha de presentación internacional de 4 de mayo, 2009, número de publicación internacional WO 2009/137391 y una fecha de publicación internacional de 12 de noviembre, 2009; el compuesto A es el compuesto del ejemplo 58. El compuesto A se puede preparar como se describe en la solicitud internacional nº PCT/US2009/042682.

Adecuadamente, el compuesto A está en forma de una sal de metanosulfonato. Esta sal la puede preparar un experto en la técnica a partir de la descripción en la solicitud internacional nº PCT/US2009/042682, que tiene una fecha de presentación internacional de 4 de mayo, 2009.

El compuesto B se describe y reivindica, junto con sus sales farmacéuticamente aceptables, como útil como un inhibidor de la actividad de AKT, en particular en el tratamiento del cáncer, en la solicitud internacional nº PCT/US2008/053269, que tiene una fecha de presentación internacional de 7 de febrero, 2008; número de publicación internacional WO 2008/098104 y una fecha de publicación internacional de 14 de agosto, 2008; El compuesto B es el compuesto del ejemplo 224. El compuesto B se puede preparar como se describe en la solicitud internacional nº PCT/US2008/053269.

La administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de las combinaciones de la invención, es ventajosa frente a los compuestos componentes individuales, en cuanto que las combinaciones proporcionarán una o más de las siguientes propiedades mejoradas, cuando se compara con la administración individual de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto componente: i) un mayor efecto anticáncer que el agente más activo solo, ii) actividad anticáncer sinérgica o altamente sinérgica, iii) una protocolo de dosificación que proporciona una actividad anticáncer mejorada con un perfil de efectos secundarios reducido, iv) una reducción del perfil del efecto tóxico, v) un aumento de la ventana terapéutica, o vi) un aumento en la biodisponibilidad de uno o ambos de los compuestos componentes.

Los compuestos de la invención pueden contener uno o más átomos quirales, o pueden por otra parte existir como dos enantiómeros. Por consiguiente, los compuestos de esta invención incluyen mezclas de enantiómeros así como enantiómeros purificados o mezclas enantioméricamente enriquecidas. También, se entiende que todos los tautómeros y mezclas de tautómeros están incluidas dentro del alcance del compuesto A, y sus sales farmacéuticamente aceptables, y el compuesto B, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de la invención pueden formar un solvato, que se entiende que es un complejo de estequiometría variable formado por un soluto (en esta invención, el compuesto A o una de sus sales y/o el compuesto B o una de sus sales) y un disolvente. Estos disolventes, para los fines de la invención, no pueden interferir con la actividad biológica del soluto. Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen agua, metanol, dimetilsulfóxido, etanol y ácido acético. Adecuadamente, el disolvente usado es un disolvente farmacéuticamente aceptable. Adecuadamente, el disolvente usado es agua.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención se preparan fácilmente por los especialistas en la técnica.

Quando se hace referencia a un protocolo de dosificación, el término "día", "al día" y similares, se refiere a un tiempo dentro de un día de calendario que empieza a medianoche y termina la medianoche siguiente.

5 Por el término "tratamiento" y derivados del mismo, como se usa en la presente memoria, se entiende terapia terapéutica. En referencia a una afección particular, tratar significa: (1) aliviar o prevenir la afección, o una o más de las manifestaciones biológicas de la afección, (2) interferir con (a) uno o más puntos en la cascada biológica que conduce a la afección, o que es responsable de la misma, o bien (b) una o más de las manifestaciones biológicas de la afección, (3) aliviar uno o más de los síntomas, efectos o efectos secundarios asociados con la afección o tratamiento de la misma, o (4) retrasar la progresión de la afección o de una o más de las manifestaciones biológicas de la afección. También se contempla la terapia profiláctica de ese modo. Los expertos en la técnica apreciarán que 10 "prevención" no es un término absoluto. En medicina, "prevención" se entiende que se refiere a la administración profiláctica de un fármaco para disminuir sustancialmente la probabilidad o la gravedad de una afección o manifestación biológica de la misma, o retrasar la aparición de tal afección o manifestación biológica de la misma. La terapia profiláctica es apropiada, por ejemplo, cuando un sujeto se considera que tiene alto riesgo de desarrollar cáncer, tal como cuando un sujeto tiene un fuerte historial familiar de cáncer o cuando un sujeto se ha expuesto a un 15 carcinógeno.

Quando se usa en esta memoria, la expresión "cantidad eficaz" significa aquella cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que es buscada, por ejemplo, por un investigador o médico. Además, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" 20 significa cualquier cantidad que, cuando se compara con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da como resultado una mejora en el tratamiento, curación, prevención o mejoría de una enfermedad, trastorno, o efecto secundario, o una reducción en el ritmo de avance de una enfermedad o trastorno. La expresión también incluye en su alcance cantidades eficaces para mejorar la función fisiológica normal.

Por el término "combinación" y derivados del mismo, como se usa en la presente memoria, se entiende una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y compuesto B o una 25 de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en la administración simultánea o cualquier forma de administración secuencial separada. Preferiblemente, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran de manera próxima en el tiempo. Además, no importa si los compuestos se administran en la misma forma farmacéutica, por ejemplo, un compuesto puede administrarse por vía tópica y el otro compuesto puede administrarse por vía oral. Adecuadamente, ambos compuestos se administran por vía oral.

30 Por la expresión "kit de combinación" como se usa en la presente memoria, se entiende la composición farmacéutica o composiciones que se usan para administrar el compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y el compuesto B, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, según la invención. Cuando ambos compuestos se administran simultáneamente, el kit de combinación puede contener el compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y el compuesto B, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en una sola 35 composición farmacéutica, tal como un comprimido, o en composiciones farmacéuticas separadas. Cuando los compuestos no se administran de forma simultánea, el kit de combinación contendrá el compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y el compuesto B, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en composiciones farmacéuticas separadas. El kit de combinación puede comprender el compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y el compuesto B, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en 40 composiciones farmacéuticas separadas en un solo envase o en composiciones farmacéuticas separadas en envases separados.

En un aspecto se proporciona un kit de combinación que comprende los componentes:

el compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable; y

45 el compuesto B, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización de la invención, el kit de combinación comprende los siguientes componentes:

el compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable; y

50 el compuesto B, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable,

en donde los componentes se proporcionan en una forma que es adecuada para la administración secuencial, separada y/o simultánea.

En una realización, el kit de combinación comprende:

un primer recipiente que comprende el compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable; y

5 un segundo recipiente que comprende el compuesto B, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y un medio de recipiente para contener dicho primer y segundo recipientes.

10 El "kit de combinación" también se puede proporcionar con instrucciones, tales como instrucciones de dosificación y administración. Dichas instrucciones de dosificación y administración pueden ser del tipo de las proporcionadas a un médico, por ejemplo, mediante una etiqueta del fármaco, o pueden ser del tipo de las proporcionadas por un médico, tal como instrucciones a un paciente.

15 Salvo que se defina de otra forma, en todos los protocolos de dosificación descritos en la presente memoria, el régimen de compuestos administrados no tiene que empezar con el inicio del tratamiento y terminar con el final del tratamiento, solo se requiere que el número de días consecutivos en el que se administran ambos compuestos y el número óptimo de días consecutivos en los que solo se administra uno de los compuestos componentes, o el protocolo de dosificación indicado, incluyendo la cantidad de compuesto administrado, se produce en algún punto durante el transcurso del tratamiento.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "compuesto A²" significa --- compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables ---.

20 Como se usa en la presente memoria, la expresión "compuesto B²" significa --- compuesto A, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables ---.

25 La expresión "dosis de ataque" como se usa en la presente memoria, se entenderá que significa una dosis individual o régimen de duración corto del compuesto A o compuesto B, que tiene una dosificación mayor que la dosis de mantenimiento administrada al sujeto para, por ejemplo, aumentar rápidamente el nivel de concentración en la sangre del fármaco. Adecuadamente, un régimen de duración corto para usar en la presente memoria será de: 1 a 14 días; adecuadamente de 1 a 7 días; adecuadamente de 1 a 3 días; adecuadamente durante 3 días; adecuadamente durante 2 días; adecuadamente durante 1 día. En algunas realizaciones, la "dosis de ataque" puede aumentar la concentración en la sangre del fármaco a un nivel terapéuticamente eficaz. En algunas realizaciones, la "dosis de ataque" puede aumentar la concentración en la sangre del fármaco a un nivel terapéuticamente eficaz junto con una dosis de mantenimiento del fármaco. La "dosis de ataque" se puede administrar una vez al día, o más de una vez al día (p. ej., hasta 4 veces al día). Adecuadamente, la "dosis de ataque" se administrará una vez al día. Adecuadamente, la dosis de ataque será una cantidad de 2 a 100 veces la dosis de mantenimiento; adecuadamente de 2 a 10 veces; adecuadamente de 2 a 5 veces; adecuadamente 2 veces; adecuadamente 3 veces; adecuadamente 4 veces; adecuadamente 5 veces. Adecuadamente, la dosis de ataque se administrará de 1 a 7 días; adecuadamente de 1 a 5 días; adecuadamente de 1 a 3 días; adecuadamente durante 1 día; adecuadamente durante 2 días; adecuadamente durante 3 días, seguido de un protocolo de dosificación de mantenimiento.

35 La expresión "dosis de mantenimiento" como se usa en la presente memoria, se entenderá que significa una dosis que se administra de forma seriada (por ejemplo, al menos dos veces), y que se pretende que eleve lentamente los niveles de concentración en la sangre del compuesto a un nivel terapéuticamente eficaz, o que mantenga dicho nivel terapéuticamente eficaz. La dosis de mantenimiento en general se administra una vez al día y la dosis diaria de la dosis de mantenimiento es menor que la dosis diaria total de la dosis de ataque.

Adecuadamente, las combinaciones de esta invención se administran en un "periodo especificado".

45 Por la expresión "periodo especificado" y derivados de la misma, como se usa en la presente memoria, se entiende el intervalo de tiempo entre la administración de uno del compuesto A² y el compuesto B² y el otro del compuesto A² y el compuesto B². Salvo que se defina de otra forma, el periodo especificado puede incluir la administración simultánea. Cuando los dos compuestos de la invención se administran una vez al día, el periodo especificado se refiere al momento de la administración del compuesto A² y el compuesto B² durante un solo día. Cuando uno o ambos compuestos de la invención se administran más de una vez al día, el periodo especificado se calcula basado en la primera administración de cada compuesto en un día específico. Todas las administraciones de un compuesto de la invención que son posteriores a la primera durante un día específico no se consideran cuando se calcula el periodo específico.

50 Adecuadamente, si los compuestos se administran dentro de un "periodo especificado" y no se administran simultáneamente, se administran ambos en el espacio de aproximadamente 24 horas el uno del otro, en este caso el periodo especificado será de aproximadamente 24 h; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 12 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 12 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 11 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 11 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 10 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de

aproximadamente 10 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 9 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 9 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 8 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 8 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 7 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 7 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 6 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 6 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 5 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 5 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 4 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 4 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 3 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 3 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 2 horas el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 2 horas; adecuadamente se administrarán ambos en el espacio de aproximadamente 1 hora el uno del otro, en este caso, el periodo especificado será de aproximadamente 1 hora. Como se usa en la presente memoria, la administración del compuesto A² y el compuesto B² en menos de aproximadamente 45 minutos de separación, se considera administración simultánea.

Adecuadamente, cuando la combinación de la invención se administra durante un "periodo especificado", los compuestos se coadministrarán durante un "periodo de tiempo".

Por la expresión "periodo de tiempo" y derivados de la misma, como se usa en la presente memoria, se entiende que ambos compuestos de la invención se administran dentro de un "periodo especificado" durante un número indicado de días consecutivos, opcionalmente seguido de un número de días consecutivos donde solo se administra uno de los compuestos componentes.

En relación con la administración un "periodo especificado":

Adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 1 día, en este caso, el periodo de tiempo será de al menos 1 día; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 2 días consecutivos, en este caso, el periodo de tiempo será de al menos 2 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 3 días consecutivos, en este caso, el periodo de tiempo será de al menos 3 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 5 días consecutivos, en este caso, el periodo de tiempo será de al menos 5 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 7 días consecutivos, en este caso, el periodo de tiempo será de al menos 7 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 14 días consecutivos, en este caso, el periodo de tiempo será de al menos 14 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 30 días consecutivos, en este caso, el periodo de tiempo será de al menos 30 días. Cuando, durante el tratamiento, se administran ambos compuestos en un periodo especificado durante más de 30 días, el tratamiento se considera tratamiento crónico y continuará hasta que un suceso de alteración, tal como una reevaluación en el estado del cáncer o un cambio en la afección del paciente, justifique una modificación del protocolo.

En relación además con la administración un "periodo especificado":

Adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 1 día, seguido de la administración del compuesto A² solo durante al menos 1 día, en este caso, el periodo de tiempo será al menos 2 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 1 día, seguido de la administración del compuesto A² solo durante al menos 2 días, en este caso, el periodo de tiempo será al menos 3 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 1 día, seguido de la administración del compuesto A² solo durante al menos 3 días, en este caso, el periodo de tiempo será al menos 4 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 1 día, seguido de la administración del compuesto A² solo durante al menos 4 días, en este caso, el periodo de tiempo será al menos 5 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 1 día, seguido de la administración del compuesto A² solo durante al menos 5 días, en este caso, el periodo de tiempo será al menos 6 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 1 día, seguido de la administración del compuesto A² solo durante al menos 6 días, en este caso, el periodo de tiempo será al menos 7 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 1 día, seguido de la administración del compuesto A solo durante al menos 7 días, en este caso, el periodo de tiempo será al menos 8 días; adecuadamente, durante el tratamiento, ambos compuestos se administrarán dentro de un periodo especificado durante al menos 2 días consecutivos, seguido de la administración del compuesto A² solo durante al menos 1 día, en este caso, el periodo de tiempo será al menos 3 días; adecuadamente, durante el tratamiento,

Adecuadamente, durante el tratamiento, el compuesto A² y el compuesto B² se administrarán en un periodo especificado durante 3 días a lo largo de un periodo de 7 días, y durante los otros días del periodo de 7 días se administrará el compuesto B² solo. Adecuadamente, este protocolo de 7 días se repite durante 2 ciclos o durante 14 días; adecuadamente durante 4 ciclos o 28 días; adecuadamente durante la administración continua.

5 Adecuadamente, durante el tratamiento, el compuesto A² y el compuesto B² se administrarán en un periodo especificado durante 2 días a lo largo de un periodo de 7 días, y durante los otros días del periodo de 7 días se administrará el compuesto A² solo. Adecuadamente, este protocolo de 7 días se repite durante 2 ciclos o durante 14 días; adecuadamente durante 4 ciclos o 28 días; adecuadamente durante la administración continua.

10 Adecuadamente, durante el tratamiento, el compuesto A² y el compuesto B² se administrarán en un periodo especificado durante 2 días a lo largo de un periodo de 7 días, y durante los otros días del periodo de 7 días se administrará el compuesto B² solo. Adecuadamente, este protocolo de 7 días se repite durante 2 ciclos o durante 14 días; adecuadamente durante 4 ciclos o 28 días; adecuadamente durante la administración continua.

15 Adecuadamente, durante el tratamiento, el compuesto A² y el compuesto B² se administrarán en un periodo especificado durante 1 día durante un periodo de 7 días, y durante los otros días del periodo de 7 días se administrará el compuesto A² solo. Adecuadamente, este protocolo de 7 días se repite durante 2 ciclos o durante 14 días; adecuadamente durante 4 ciclos o 28 días; adecuadamente durante la administración continua.

20 Adecuadamente, durante el tratamiento, el compuesto A² y el compuesto B² se administrarán en un periodo especificado durante 1 día durante un periodo de 7 días, y durante los otros días del periodo de 7 días se administrará el compuesto B² solo. Adecuadamente, este protocolo de 7 días se repite durante 2 ciclos o durante 14 días; adecuadamente durante 4 ciclos o 28 días; adecuadamente durante la administración continua.

Adecuadamente, durante el tratamiento, el compuesto A² y el compuesto B² se administrarán en un periodo especificado durante 1 a 5 días a lo largo de un periodo de 14 días, y durante los otros días del periodo de 14 días se administrará el compuesto A² solo. Adecuadamente, este protocolo de 14 días se repite durante 2 ciclos o durante 28 días; adecuadamente durante la administración continua.

25 Adecuadamente, durante el tratamiento, el compuesto A² y el compuesto B² se administrarán en un periodo especificado durante 1 a 5 días a lo largo de un periodo de 14 días, y durante los otros días del periodo de 14 días se administrará el compuesto B² solo. Adecuadamente, este protocolo de 14 días se repite durante 2 ciclos o durante 28 días; adecuadamente durante la administración continua.

30 Adecuadamente, si los compuestos no se administran durante un "periodo especificado" se administran de forma secuencial. Por la expresión "administración secuencial" y derivadas de la misma, como se usa en la presente memoria, se entiende que se administra uno del compuesto A² y el compuesto B² durante dos o más días consecutivos y el otro del compuesto A² y el compuesto B² posteriormente se administra durante dos o más días consecutivos. También está contemplado en la presente memoria, un descanso del fármaco usado entre la administración secuencial de uno del compuesto A² y el compuesto B² y el otro del compuesto A² y el compuesto B².
 35 Como se usa en la presente memoria, un descanso del fármaco es un periodo de días después de la administración secuencial de uno del compuesto A² y el compuesto B² y antes de la administración del otro del compuesto A² y el compuesto B² donde no se administra ni el compuesto A² ni el compuesto B². Adecuadamente, el descanso del fármaco será un periodo de días seleccionado de: 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días y 14 días.

40 Adecuadamente, si los compuestos no se administran durante un "periodo especificado" se administran de forma secuencial. Por la expresión "administración secuencial" y derivados de la misma, como se usa en la presente memoria, se entiende que uno del compuesto A² y el compuesto B² se administra una vez al día durante uno o más días consecutivos y el otro del compuesto A² y el compuesto B² se administra posteriormente una vez al día durante uno o más días consecutivos.

45 En relación con la administración secuencial:

Adecuadamente, uno del compuesto A² y el compuesto B² se administra durante 2 a 30 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco opcional, seguido de la administración del otro del compuesto A² y el compuesto B² durante 2 a 30 días consecutivos. Adecuadamente, uno del compuesto A² y el compuesto B² se administra durante 2 a 21 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco opcional, seguido de la administración del otro del compuesto A² y el compuesto B² durante 2 a 21 días consecutivos. Adecuadamente, uno del compuesto A² y el compuesto B² se administra durante 2 a 14 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco de 1 a 14 días, seguido de la administración del otro del compuesto A² y el compuesto B² durante 2 a 14 días consecutivos. Adecuadamente, uno del compuesto A² y el compuesto B² se administra durante 3 a 7 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco de 3 a 10 días, seguido de la administración del otro del compuesto A² y el compuesto B² durante 3 a 7 días consecutivos.
 50
 55

Adecuadamente, uno del compuesto A² y el compuesto B² se administra durante 1 a 30 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco opcional, seguido de la administración del otro del compuesto A² y el compuesto B²

consecutivos, seguido de un descanso del fármaco de 1 a 14 días, seguido de la administración del compuesto B² durante 3 a 21 días consecutivos. Adecuadamente, el compuesto A² se administra durante 3 a 21 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco de 3 a 14 días, seguido de la administración del compuesto B² durante 3 a 21 días consecutivos. Adecuadamente, el compuesto A² se administra durante 21 días consecutivos, seguido de un
 5 descanso del fármaco opcional, seguido de la administración del compuesto B² durante 14 días consecutivos. Adecuadamente, el compuesto A² se administra durante 14 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco de 1 a 14 días, seguido de la administración del compuesto B² durante 14 días consecutivos. Adecuadamente, el compuesto A² se administra durante 7 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco de 3 a 10 días, seguido de la administración del compuesto B² durante 7 días consecutivos. Adecuadamente, el compuesto A² se
 10 administra durante 3 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco de 3 a 14 días, seguido de la administración del compuesto B² durante 7 días consecutivos. Adecuadamente, el compuesto A² se administra durante 3 días consecutivos, seguido de un descanso del fármaco de 3 a 10 días, seguido de la administración del compuesto B² durante 3 días consecutivos. Adecuadamente, el compuesto A² se administra durante 7 días consecutivos, seguido de la administración del compuesto B² durante 1 día. Adecuadamente, el compuesto A² se
 15 administra durante 6 días consecutivos, seguido de la administración del compuesto B² durante 1 día. Adecuadamente, el compuesto B² se administra durante 1 día, seguido de la administración del compuesto A² durante 7 días consecutivos. Adecuadamente, el compuesto B² se administra durante 1 día, seguido de la administración del compuesto A² durante 6 días consecutivos.

Se entiende que a un "periodo especificado" de administración y una administración "secuencial" le puede seguir la dosificación repetida o le puede seguir un protocolo de dosificación alternativo, y le puede preceder un descanso del fármaco a la dosificación repetida o al protocolo de dosificación alternativo.
 20

Adecuadamente, la cantidad del compuesto A² administrada como parte de la combinación según la presente invención, será una cantidad seleccionada de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 300 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 280 mg;
 25 adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 260 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 60 mg a aproximadamente 240 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 80 mg a aproximadamente 220 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 90 mg a aproximadamente 210 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 200 mg,
 30 adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 110 mg a aproximadamente 190 mg, adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 120 mg a aproximadamente 180 mg, adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 130 mg a aproximadamente 170 mg, adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 140 mg a aproximadamente 160 mg, adecuadamente, la cantidad será 150 mg. Por consiguiente, la cantidad del compuesto A² administrada como parte
 35 de la combinación según la presente invención, será una cantidad seleccionada de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 300 mg. Por ejemplo, la cantidad del compuesto A² administrada como parte de la combinación según la presente invención se selecciona adecuadamente de 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg, 140 mg, 145 mg, 150 mg, 155 mg, 160 mg, 165 mg, 170 mg, 175 mg, 180 mg, 185 mg, 190 mg, 195 mg, 200 mg, 205 mg, 210 mg, 215 mg, 220 mg, 225 mg, 230 mg, 235 mg, 240 mg, 245 mg, 250 mg, 255 mg, 260 mg, 265 mg, 270 mg, 275 mg, 280 mg, 285 mg, 290 mg, 295 mg y 300 mg. Adecuadamente, la cantidad seleccionada del compuesto A² se
 40 administra de 1 a 4 veces al día. Adecuadamente, la cantidad seleccionada del compuesto A² se administra dos veces al día. Adecuadamente, la cantidad seleccionada del compuesto A² se administra una vez al día. Adecuadamente, la administración del compuesto A² empezará como una dosis de ataque. Adecuadamente, la dosis de ataque será una cantidad de 2 a 100 veces la dosis de mantenimiento; adecuadamente de 2 a 10 veces; adecuadamente de 2 a 5 veces; adecuadamente 2 veces; adecuadamente 3 veces; adecuadamente 4 veces; adecuadamente 5 veces. Adecuadamente, la dosis de ataque se administrará de 1 a 7 días; adecuadamente de 1 a 5 días; adecuadamente de 1 a 3 días; adecuadamente durante 1 día; adecuadamente durante 2 días; adecuadamente durante 3 días, seguido de un protocolo de dosificación de mantenimiento.

Adecuadamente, la cantidad del compuesto B² administrada como parte de la combinación según la presente invención, será una cantidad seleccionada de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 400 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 375 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 35 mg a aproximadamente 350 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará
 55 de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 300 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 45 mg a aproximadamente 275 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 250 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 55 mg a aproximadamente 225 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 60 mg a aproximadamente 200 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de
 60 aproximadamente 65 mg a aproximadamente 175 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 70 mg a aproximadamente 150 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 300 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 150 mg; adecuadamente, la cantidad será aproximadamente 100 mg.

Por consiguiente, la cantidad del compuesto B² administrada como parte de la combinación según la presente invención, será una cantidad seleccionada de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg. Por ejemplo, la cantidad del compuesto B² administrada como parte de la combinación según la presente invención puede ser 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg, 140 mg, 145 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg o 500 mg. Adecuadamente, la cantidad seleccionada del compuesto B² se administra dos veces al día. Adecuadamente, la administración del compuesto B² empezará como una dosis de ataque. Adecuadamente, la dosis de ataque será una cantidad de 2 a 100 veces la dosis de mantenimiento; adecuadamente de 2 a 10 veces; adecuadamente de 2 a 5 veces; adecuadamente 2 veces; adecuadamente 3 veces; adecuadamente 4 veces; adecuadamente 5 veces. Adecuadamente, la dosis de ataque se administrará de 1 a 7 días; adecuadamente de 1 a 5 días; adecuadamente de 1 a 3 días; adecuadamente durante 1 día; adecuadamente durante 2 días; adecuadamente durante 3 días, seguido de un protocolo de dosificación de mantenimiento.

Adecuadamente, la cantidad del compuesto B² administrada como parte de la combinación según la presente invención, será una cantidad seleccionada de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 1.000 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 900 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 150 mg a aproximadamente 850 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 800 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 750 mg; adecuadamente, la cantidad se seleccionará de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 6000 mg; adecuadamente, la cantidad será aproximadamente 450 mg. Por consiguiente, la cantidad del compuesto B² administrada como parte de la combinación según la presente invención, será una cantidad seleccionada de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 1.000 mg. Por ejemplo, la cantidad del compuesto B² administrada como parte de la combinación según la presente invención puede ser 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg, 500 mg, 525 mg, 550 mg, 575 mg, 600 mg, 625 mg, 650 mg, 675 mg, 700 mg, 725 mg, 750 mg, 775 mg, 800 mg, 825 mg, 850 mg, 875 mg, 900 mg, 925 mg, 950 mg, 975 mg o 1.000 mg. Adecuadamente, la cantidad seleccionada del compuesto B² se administra dos veces al día. Adecuadamente, la cantidad seleccionada del compuesto B² se administra una vez al día.

Como se usa en la presente memoria, todas las cantidades especificadas para el compuesto A² y el compuesto B² están indicadas como la cantidad administrada de compuesto libre o no en forma de sal o no en forma solvatada por dosis.

La combinación de la presente invención también se puede usar con otros compuestos terapéuticos en el tratamiento del cáncer.

Aunque para usar en terapia se pueden administrar cantidades terapéuticamente eficaces de las combinaciones de la presente invención como el compuesto químico solo, se prefiere presentar las combinaciones como una composición o composiciones farmacéuticas. Por consiguiente, la invención proporciona además composiciones farmacéuticas, que incluyen el compuesto A² y/o el compuesto B², y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Las combinaciones de la presente invención son como se han descrito antes. El o los vehículos deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación, capaces de formulación farmacéutica, y no ser perjudiciales para el receptor de los mismos. De acuerdo con otro aspecto de la invención, también se proporciona un procedimiento para preparar una formulación farmacéutica que incluye mezclar el compuesto A² y/o el compuesto B² con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Como se ha indicado antes, dichos elementos de la combinación farmacéutica usados se pueden presentar en composiciones farmacéuticas separadas o formular juntos en una formulación farmacéutica.

Las formulaciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosificación unitarias que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Como conocen los expertos en la técnica, la cantidad de ingrediente activo por dosis dependerá de la afección que se va a tratar, la vía de administración y la edad, peso y afección del paciente. Las formulaciones en dosis unitarias preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria o una fracción adecuada de la misma, de un ingrediente activo. Además, tales formulaciones farmacéuticas pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica.

El compuesto A² y el compuesto B² se pueden administrar por cualquier vía adecuada. Las vías adecuadas incluyen la oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal, y epidural). Se observará que la vía preferida puede variar, por ejemplo, con la afección del receptor de la combinación y el cáncer que se va a tratar. También se observará que cada uno de los agentes administrados, se puede administrar por la misma vía o diferentes vías y que el compuesto A² y el compuesto B² se pueden combinar entre sí en una composición/formulación farmacéutica.

Los compuestos o combinaciones de la presente invención se incorporan en las formas farmacéuticas convenientes tales como cápsulas, comprimidos o preparaciones inyectables. Se emplean vehículos farmacéuticos sólidos o

líquidos. Los vehículos sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato cálcico dihidrato, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio y ácido esteárico. Los vehículos líquidos comprenden jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, solución salina y agua. Igualmente, el vehículo puede también incluir un material de liberación prolongada como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o con una cera. La cantidad de vehículo sólido varía ampliamente pero, preferiblemente, será de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 1 g por unidad de dosificación. Cuando se usa un vehículo líquido, la preparación estará adecuadamente en forma de un jarabe, elixir, emulsión, cápsula de gelatina blanda, líquido inyectable estéril tal en forma de una ampolla, o una suspensión líquida acuosa o no acuosa.

Por ejemplo, para administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente de fármaco activo puede combinarse con un vehículo oral, inerte, no tóxico, farmacéuticamente aceptable tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se preparan triturando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclándolo con un vehículo farmacéutico triturado de manera similar tal como un carbohidrato comestible, como por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes agentes aromatizantes, conservantes, dispersantes y colorantes.

Debe entenderse que además de los ingredientes mencionados anteriormente, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica que guarden relación con el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, los adecuados para la administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

Como se ha indicado, se administran cantidades terapéuticamente eficaces de las combinaciones de la invención (compuesto A² en combinación con compuesto B²) a un ser humano. Típicamente, la cantidad terapéuticamente eficaz de los agentes administrados de la presente invención dependerá de una serie de factores incluyendo, por ejemplo, la edad y peso del sujeto, la afección precisa que necesita tratamiento, la gravedad de la afección, la naturaleza de la formulación y la vía de administración. Finalmente, la cantidad terapéuticamente eficaz será a discreción del médico que atiende.

Se ensaya en las combinaciones de la presente invención la eficacia, propiedades ventajosas y sinérgicas de acuerdo con procedimientos conocidos.

Adecuadamente, se ensaya en las combinaciones de la invención la eficacia, propiedades ventajosas y sinérgicas en general de acuerdo con la siguiente combinación de ensayos de proliferación celular. Las células se cultivan en placas de 384 pocillos con 500 células/pocillo en medio de cultivo adecuado para cada tipo de célula, complementado con FBS al 10% y penicilina/estreptomycinina al 1%, y se incubaron a 37°C, 5% de CO₂. Las células se tratan en forma de una rejilla con dilución del compuesto A² (20 diluciones, que no incluyen compuesto, de diluciones de 2 veces partiendo de 1-20 μM dependiendo de la combinación) de izquierda a derecha en la placa de 384 pocillos y también se tratan con el compuesto B² (20 diluciones, que no incluyen compuesto, de diluciones de 2 veces partiendo de 1-20 μM dependiendo de la combinación) de la parte superior a la inferior en la placa de 384 pocillos y se incubaron como antes durante 72 h más. En algunos casos, los compuestos se añaden de forma escalonada y el tiempo de incubación se puede prolongar hasta 7 días. El crecimiento celular se mide usando el reactivo CellTiter-Glo® según el protocolo del fabricante y las señales se leen en un lector PerkinElmer EnVision™ ajustado para el modo de luminiscencia con una lectura de 0,5 segundos. Los datos se analizan como se describe más adelante.

Los resultados se expresan como un porcentaje del valor en t=0 y se representan gráficamente frente a la concentración de compuesto(s). El valor en t=0 se normaliza a 100% y representa el número de células presentes en el momento de la adición del compuesto. Se determina la respuesta celular para cada compuesto y/o combinación de compuestos usando un ajuste de curva de 4 o 6 parámetros de la viabilidad celular frente a la concentración usando el módulo IDBS XLfit para el software de Microsoft Excel y determinando la concentración requerida para la inhibición de 50% del crecimiento celular (gCI₅₀). La corrección de la señal de fondo se hace restando los valores de los pocillos que no contienen células. Para cada combinación de fármacos se calcula un índice de combinación (IC), exceso sobre el agente solo más alto (EOHSA) y el exceso sobre Bliss (EOBliss) según métodos conocidos, tales como los descritos por Chou y Talalay (1984) *Advances in Enzyme Regulation*, 22, 37 a 55; y Berenbaum, MC (1981) *Adv. Cancer Research*, 35, 269-335.

Estudios de combinación in vitro de inhibidores de BRAF y AKT en líneas de células de cáncer de múltiples orígenes que codifican diferentes mutaciones dentro de las rutas de MAPK y AKT/PI3K

Se llevaron a cabo experimentos de combinaciones de fármacos en placas de 384 pocillos. Las células se cultivaron en placas de 384 pocillos con 500 células/pocillo en medio de cultivo adecuado para cada tipo de célula, complementado con FBS al 10% y penicilina/estreptomycinina al 1%, y se incubaron a 37°C, 5% de CO₂. Se ensayó la inhibición del crecimiento celular en matriz de 16 concentraciones de dilución de 2 veces de cada fármaco. Las concentraciones ensayadas para el compuesto A (compuesto para BRAF) y compuesto B (compuesto para AKT) eran 10 μM - 0,3 nM. Las células se trataron con la combinación de compuestos y se incubaron a 37°C durante 72 horas. El crecimiento celular se midió usando el reactivo CellTiter-Glo® según el protocolo del fabricante y las señales se leyeron en un lector PerkinElmer EnVision™ ajustado para el modo de luminiscencia con una lectura de 0,5 segundos. Los resultados se expresan como un porcentaje de inhibición comprado con las células tratadas con

DMSO y la corrección de la señal de fondo se hizo mediante resta de los valores de los pocillos que no contenían células.

La respuesta (porcentaje de inhibición comparado con muestras no tratadas y normalizadas respecto a la media solo) del compuesto "A" a la concentración "a" (Ra) y la del compuesto "B" a la concentración "b" (Rb) se compara con la respuesta de la mezcla de compuestos "A" y "B" a las concentraciones "a" y "b" respectivamente (Rab). La ecuación para EOHSA es:

Rab > 10% del valor más alto entre Ra y Rb = aditivo

Rab < -10% del valor más alto entre Ra y Rb = antagonismo

Usando esta fórmula, si Rab es mayor en 10% o más que el valor más alto entre Ra y Rb, la combinación de fármacos es aditiva. Si Rab es menor en 10% o más que el valor más alto entre Ra y Rb, la combinación de fármacos es antagonista.

El número de combinaciones en la matriz de 16 X 16 que responden de una forma aditiva al tratamiento de combinación se enumeraron y citaron en la tabla 1. En esta tabla se asignó que una combinación en una línea celular dada era beneficiosa (cuadrado gris) si más de 20% (51 combinaciones de 256 ensayadas) de las combinaciones ensayadas mostraban aditividad como se ha definido por un valor mayor de 10% de exceso sobre el agente solo más alto (EOHSA de 10%).

Tabla 1: Efecto de la combinación de inhibidores de AKT y BRAF en múltiples líneas de células de cáncer

Origen	Líneas celulares	MAPK	PI3K/PTEN	nº de combinaciones de fármacos con EOHSA	%
Piel	A375P	BRAF ^{V600E}	Nat/Nat	48	19
Colon	RKO	BRAF ^{V600E}	mut/Nat	123	48
Piel	A101D	BRAF ^{V600E}	Nat/mut	81	32
Piel	SK-MEL-5	BRAF ^{V600E} NRAS ^{G12V}	Nat/inc	92	36
Pulmón	A-549	KRAS ^{G12S}	Nat/Nat	59	23
Colon	LoVo	KRAS ^{G13D}	Nat/Nat	70	27
Colon	HCT116	KRAS ^{G13D}	mut/Nat	60	23
Piel	SK-MEL-2	NRAS ^{Q61R}	Nat/Nat	65	25
Pulmón	H1299	NRAS ^{Q61R}	Nat/Nat	46	18
Sarcoma	HT-1080	NRAS ^{Q61K}	Nat/Nat	59	23
Mama	MDA-MB-231	NRAS ^{Q61K}	Nat/Nat	59	23

Estos datos demuestran que la combinación de inhibidores de AKT y BRAF es favorable en múltiples líneas de células de cáncer de múltiples orígenes independiente del estado de mutación de los oncogenes clave dentro de las rutas de MAPK o AKT/PI3K ya que múltiples combinaciones de fármacos (>20%) mostraron actividad inhibitoria de >10% de exceso sobre el agente solo más alto (EOHSA).

Inhibición del crecimiento celular in vitro por el compuesto A (compuesto para BRAF), el compuesto B (compuesto para AKT), y su combinación en líneas de células tumorales

Métodos:

Líneas celulares y condiciones de crecimiento

Las líneas tumorales de colon humano, Colo205, DLD1, HCC2998, HCT15, HCT8, HT29, KM-12, LS1034, LS174T, NCI-H508, RKO, SW1417, SW1463, SW480, SW837 y T84, y línea de melanoma humano A375 eran de la ATCC.

A375PF11 se obtuvo de A375, 12R5-1, 12R5-3, 12R8-1, 12R8-3, 16R5-2, 16R6-3 y 16R6-4 son clones celulares individuales derivados de poblaciones mixtas de células A375PF11 que se seleccionaron para crecer en el compuesto A en concentraciones de 1200 y 1600 nM. Todas las líneas celulares se cultivaron en medio RPMI 1640 que contenía suero bovino fetal al 10% (FBS).

5 Ensayo de inhibición del crecimiento celular y análisis de datos de la combinación

10 Todas las células se cultivaron durante un mínimo de 72 h antes de cultivo celular en placa. Las células se ensayaron en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos (NUNC 136102) de medio RPMI que contenía FBS al 10% para todas las células, con 1.000 células por pocillo. Aproximadamente 24 h después del cultivo en placa, las células se expusieron a 10 diluciones seriadas de 3 veces del compuesto o la combinación de los dos agentes en una relación constante molar a molar del compuesto A al compuesto B de 1:10 en medio RPMI que contenía FBS al 10%. Las células se incubaron en la presencia de compuestos durante 3 días. Los niveles de ATP se determinaron añadiendo Cell Titer Glo® (Promega) según el protocolo del fabricante. Brevemente, se añadió Cell Titer Glo® a cada placa, se incubó durante 30 min y después la señal de luminiscencia se leyó en el lector de placa SpectraMax L con un tiempo de integración de 0,5 s.

15 Se calculó la inhibición del crecimiento celular después de tratamiento con compuesto o combinación de compuestos durante 3 días y comparando la señal con las células tratadas con vehículo (DMSO). El crecimiento celular se calculó con respecto a los pocillos de control tratados con vehículo (DMSO). La concentración de compuesto que inhibe 50% del crecimiento de las células de control (CI_{50}) se interpoló cuando $y=50\%$ del vehículo de control usando regresión no lineal con la ecuación, $y=(A+(B-A)/(1+(C/x)^D))$, donde A es la respuesta mínima (y_{min}), B es la respuesta máxima (y_{max}). C es el punto de inflexión de la curva (CE_{50}) y D es el coeficiente de Hill.

20 Los efectos de la combinación en la potencia se evaluaron usando el índice de combinación (IC) que se calculó con los valores de CI_{50} vueltos a interpolar y la ecuación mutuamente no exclusiva derivada de Chou y Talalay (1):

$$IC = Da/CI_{50}(a) + Db/CI_{50}(b) + (Da \times Db)/(CI_{50}(a) \times CI_{50}(b))$$

25 donde $CI_{50}(a)$ es la CI_{50} del compuesto A; $CI_{50}(b)$ es la CI_{50} para el compuesto B; Da es la concentración del compuesto A en combinación con el compuesto B que inhibía 50% del crecimiento celular; y Db es la concentración del compuesto B en combinación con el compuesto A que inhibía 50% del crecimiento celular. En general, un valor de IC <0,9, entre 0,9 y 1,1, o >1,1 indica sinergia, aditividad y antagonismo, respectivamente. En general, cuanto menor es el número IC, mayor es la fuerza de la sinergia.

30 Los efectos de la combinación en la escala de respuesta se cuantificaron por el exceso sobre el agente solo más alto (EOHSA) basado en el concepto de mezcla no lineal como describen con detalle Peterson y Novick (2007) y Peterson (2010) [(2;3) [Peterson y Novick, 2007; Peterson, 2010]. Los valores de EOHSA se definen como aumentos de la mejora (aquí, en diferencia en "puntos de porcentaje" (ppts)) producidos por la combinación frente al mejor agente solo a su nivel de dosis de componente para la combinación. Para tratamientos con el agente solo y combinaciones, las células se expusieron a compuestos con una relación de dosis fijada, y se ajustaron las curvas de respuesta a la dosis con los datos experimentales y se analizaron usando modelos de regresión. En los niveles de dosis total especificados de CI_{50} a lo largo de la curva de respuesta a la dosis, se determinó la combinación de dosis (correspondiente a CI_{50}) para hacer interferencias estadísticas de EOHSA. Más específicamente, para un experimento de combinación de fármacos que implica el fármaco 1 en una dosis d1 y el fármaco 2 en una dosis d2, (es decir, la dosis total es igual a d1+d2) se dice que tiene un EOHSA positivo si la respuesta media en la combinación es mejor que la respuesta media al fármaco 1 en una dosis d1 y el fármaco 2 en una dosis d2.

Resultados:

45 El efecto de inhibición del crecimiento celular por un compuesto A inhibidor de BRAF, un compuesto B inhibidor de AKT y su combinación, se determinó en un panel de líneas de células tumorales humanas. Las CI_{50} medias (de al menos dos experimentos independientes) y los efectos de la combinación en las CI_{50} se resumen en la tabla 2 con estados de mutación de BRAF, KRAS y PIK3CA.

50 Las cuatro líneas de células de colon con la mutación V600E de BRAF presentaron sensibilidad al compuesto A con valores de CI_{50} entre 0,018 μ M y 3,316 μ M, y al compuesto B con valores de CI_{50} entre 0,290 μ M y 2,587 μ M. La combinación del compuesto A y el compuesto B era altamente sinérgica con valor de IC de 0,16 en células RKO con mutaciones tanto V600E de BRAF como H1047R de PIK3CA, y moderadamente sinérgica o aditiva en líneas SW1417, Colo205 y HT29. Las otras 12 líneas de colon sin la mutación V600E de BRAF eran insensibles al compuesto A ($CI_{50} > 5 \mu$ M). La combinación del compuesto A y el compuesto B mostró inhibición del crecimiento celular potenciada demostrada por los valores de EOHSA de 17 a 54 ppts en estas líneas.

55 Para las líneas tumorales de melanoma citadas en la tabla 2, las células A375PF11 con mutación V600E de BRAF eran muy sensibles al compuesto A ($CI_{50} = 0,063 \mu$ M), pero insensibles al compuesto B ($CI_{50} > 10 \mu$ M). La combinación del compuesto A y el compuesto B mostró actividad similar al compuesto A solo en las células A375PF11. Los 7 clones resistentes al compuesto A (12R8-3, 12R8-1, 12R5-3, 16R5-2, 16R6-3, 16R6-4 y 12R5-1

derivados de la línea de células de melanoma A375PF11) eran insensibles al compuesto B con $CI_{50} \geq 7 \mu M$. La combinación del compuesto A y el compuesto B mostró inhibición del crecimiento celular potenciada en concentraciones relativamente más altas ($\sim 1 \mu M$) tanto del compuesto A como del compuesto B.

Tabla 2. Inhibición del crecimiento celular por el compuesto A, compuesto B y su combinación en líneas de células tumorales humanas

Tabla 2.

Líneas celulares		Estado de mutación			Valores de CI_{50} en micromolar (media \pm std)			Efectos de la combinación	
					Agente individual		Compuesto A o B en combinación en relación molar 1:1		
		BRAF	KRAS	PIK3CA	Compuesto A	Compuesto B		IC	EOHSA
Colon	RKO	V600E	natural	H1047R	3,136 \pm 3,466	0,290 \pm 0,078	0,038 \pm 0,012	0,16 \pm 0,02	26 \pm 2
	SW1417	V600E	natural	natural	0,101 \pm 0,031	2,587 \pm 1,757	0,065 \pm 0,025	0,69 \pm 0,03	4 \pm 1
	HT29	V600E	natural	P449T	0,028 \pm 0,007	0,503 \pm 0,073	0,023 \pm 0,001	0,95 \pm 0,27	2 \pm 4
	Colo205	V600E	natural	natural	0,018 \pm 0,003	0,908 \pm 0,605	0,017 \pm 0,002	0,97 \pm 0,01	2 \pm 1
	NCI-H508	G596R	natural	E545K	>10	0,234 \pm 0,247	0,103 \pm 0,088	N/A	19 \pm 11
	HCT8	natural	G13D	E545K	>10	0,527 \pm 0,038	0,236 \pm 0,036	N/A	15 \pm 2
	KM-12	natural	natural	natural	>10	1,412 \pm 0,961	0,503 \pm 0,286	N/A	20 \pm 9
	HCT15	natural	G13D	D549N, E545K	>10	4,205 \pm 0,834	0,610 \pm 0,039	N/A	38 \pm 3
	HCC2998	natural	A146T	natural	>10	2,912 \pm 1,447	0,686 \pm 0,043	N/A	21 \pm 4
	DLD1	natural	G13D	E545K, D549N	>10	>10	0,762 \pm 0,083	N/A	32 \pm 3
	LS174T	natural	G12D	H1047R	>10	3,746 \pm 0,945	0,946 \pm 0,202	N/A	39 \pm 11
	SW480	natural	G12C	natural	>10	5,625 \pm 1,853	1,441 \pm 1,022	N/A	26 \pm 3
	LS1034	natural	A146T	natural	>10	6,393 \pm 3,554	1,519 \pm 0,524	N/A	17 \pm 0
	SW1463	natural	G12C	natural	>10	5,230 \pm 7,398	2,797 \pm 2,174	N/A	54 \pm 5
	SW837	natural	G12C	natural	5,437 \pm 7,689	>10	3,582 \pm 0,554	N/A	25 \pm 14
T84	natural	G13D	E542K	>10	>10	5,121 \pm 2,507	N/A	50 \pm 0	
Melanoma	F11	BRAF_V600E	natural	NE	0,063 \pm 0,004	>10	0,090 \pm 0,021	1,443 \pm 0,245	-5 \pm 4
	16R5-2	BRAF_V600E	natural	NE	>10	7,050 \pm 1,328	0,897 \pm 0,071	N/A	32 \pm 1
	16R6-4	BRAF_V600E	natural	NE	>10	>10	1,122 \pm 0,063	N/A	41 \pm 13
	12R5-1	BRAF_V600E	natural	NE	>10	>10	1,176 \pm 0,014	N/A	65 \pm 7
	12R5-3	BRAF_V600E	natural	NE	>10	>10	1,229 \pm 0,394	N/A	44 \pm 20
	12R8-3	BRAF_V600E	natural	NE	>10	>10	1,271 \pm 0,142	N/A	55 \pm 6
	12R8-1	BRAF_V600E	natural	NE	>10	>10	1,667 \pm 0,125	N/A	45 \pm 0
	16R6-3	BRAF_V600E	natural	NE	>10	>10	1,720 \pm 0,300	N/A	42 \pm 5

Claves tabla 2:

CI_{50} : la concentración del(de los) compuesto(s) o la concentración del compuesto A en presencia de cantidad molar igual del compuesto B que reduce el crecimiento celular en 50%;

IC = índice de combinación; N/A = no aplicable; NE = no ensayado.

EOHSA: exceso sobre el agente solo más alto, medido como un porcentaje.

5 F11: A375PF11.

Lista de referencias

(1) Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv. Enzyme Regul.* 1984; 22:27-55.

5 (2) Peterson JJ, Novick SJ. Nonlinear blending: a useful general concept for the assessment of combination drug synergy. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 2007;27(2-3) :125-46.

(3) Peterson J. A Review of Synergy Concepts of Nonlinear Blending and Dose-Reduction Profiles. *Frontiers of Bioscience S2*, 483-503. 2010.

Debido a que las combinaciones de la presente invención son activas en los ensayos anteriores, presentan utilidad terapéutica ventajosa en el tratamiento del cáncer.

10 Adecuadamente, la presente invención se refiere a una combinación para usar en el tratamiento o reducción de la gravedad de un cáncer seleccionado de: cerebro (gliomas), glioblastomas, astrocitomas, glioblastoma multiforme, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, de mama, cáncer de mama inflamatorio, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, hígado, melanoma, ovario, pancreático, próstata, sarcoma, osteosarcoma, tumor óseo de células gigantes, tiroides.

15 leucemia linfoblástica de linfocitos T, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia neutrofílica crónica, leucemia de linfocitos T linfoblástica aguda, plasmacitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células del manto, mieloma múltiple, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple, leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, eritroleucemia,

20 linfoma maligno, linfoma de hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma linfoblástico de células T, linfoma de Burkitt, linfoma folicular,

25 neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer de pulmón, cáncer vulvar, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer renal, mesotelioma, cáncer esofágico, cáncer de las glándulas salivales, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer oral, cáncer de la boca, GIST (tumor estromático gastrointestinal) y cáncer testicular.

30 Adecuadamente, la presente invención se refiere a una combinación para usar en el tratamiento o reducción de la gravedad de un cáncer seleccionado de: cerebro (gliomas), glioblastomas, astrocitomas, glioblastoma multiforme, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, de mama, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, hígado, melanoma, ovario, pancreático, próstata, sarcoma y tiroides.

Adecuadamente, la presente invención se refiere a una combinación para usar en el tratamiento o reducción de la gravedad de un cáncer seleccionado de ovario, mama, pancreático y próstata.

35 Adecuadamente, la presente invención se refiere a una combinación para usar en el tratamiento o reducción de la gravedad de síndromes precancerosos en un mamífero, incluyendo un ser humano, en donde el síndrome precanceroso se selecciona de: neoplasia intraepitelial cervicouterina, gammapatía monoclonal de significado incierto (MGUS), síndrome mielodisplásico, anemia aplásica, lesiones cervicouterinas, lunares de la piel (pre-melanoma), neoplasia intraepitelial prostática (intraductal) (PIN), carcinoma ductal in situ (DCIS), pólipos de colon y hepatitis grave o cirrosis.

40 Adecuadamente, la presente invención se refiere a una combinación para usar en el tratamiento o reducción de la gravedad de un cáncer con Raf natural o mutante y PI3K/Pten natural o mutante. Esto incluye pacientes tanto con Raf como PI3K/PTEN naturales, tanto Raf como PI3K/PTEN mutantes, Raf mutante y PI3K/PTEN natural y Raf natural y PI3K/PTEN mutante.

45 El término "natural" como se entiende en la técnica se refiere a una secuencia de polipéptido o polinucleótido que se encuentra en una población nativa sin modificación genética. Como se entiende también en la técnica un "mutante" incluye una secuencia de polipéptido o polinucleótido que tiene al menos una modificación de un aminoácido o ácido nucleico comparado con el correspondiente aminoácido o ácido nucleico encontrado en un polipéptido o polinucleótido, respectivamente. Está incluido en el término mutante el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) donde existe una diferencia de un solo par de bases en la secuencia de una cadena de ácido nucleico comparado con la cadena de ácido nucleico encontrada de forma más prevalente (natural).

50 Los cánceres que tienen Raf natural o mutante y PI3K/Pten natural o mutante se identifican por métodos conocidos.

Por ejemplo, las células tumorales con Raf o PI3K/PTEN natural o mutante se pueden identificar por técnicas de amplificación y secuenciación de ADN, técnicas de detección de ADN y ARN, incluyendo, pero no limitado a transferencia Northern y Southern, respectivamente, y/o diferentes tecnologías de biochip y matriz. Los polipéptidos naturales y mutantes se pueden detectar por una variedad de técnicas incluyendo, pero no limitado a técnicas de

inmunodiagnóstico tales como ELISA, transferencia Western e inmunocitoquímica. Adecuadamente, se pueden usar métodos de polimerización activada por pirofosforilosis (PAP) y/o de PCR. Liu, Q et al; *Human Mutation* 23:426-436 (2004).

5 Esta invención proporciona una combinación que comprende *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 Esta invención también proporciona una combinación que comprende *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en terapia.

15 Esta invención también proporciona una combinación que comprende *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento del cáncer.

Esta invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende una combinación de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

20 Esta invención también proporciona un kit de combinación que comprende *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

25 Esta invención también proporciona el uso de una combinación que comprende *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento.

30 Esta invención también proporciona el uso de una combinación que comprende *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer.

Detalles Experimentales

Ejemplo 1 - Composición de cápsulas

35 Se produce una forma farmacéutica oral para administrar una combinación de la presente invención, llenando una cápsula de gelatina dura de dos piezas convencional con los ingredientes en las proporciones mostradas en la tabla I a continuación.

Tabla I

INGREDIENTES	CANTIDADES
Metanosulfonato de <i>N</i> -{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (la sal de metanosulfonato del compuesto A)	100 mg
<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1 <i>H</i> -pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida (compuesto B)	300 mg
Manitol	250 mg
Talco	125 mg
Estearato de magnesio	8 mg

40 Ejemplo 2 - Composición de cápsulas

Se produce una forma farmacéutica oral para administrar uno de los compuestos de la presente invención, llenando una cápsula de gelatina dura de dos piezas convencional con los ingredientes en las proporciones mostradas en la tabla II a continuación.

Tabla II

INGREDIENTES	CANTIDADES
Metanosulfonato de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (la sal de metanosulfonato del compuesto A)	100 mg
Manitol	55 mg
Talco	16 mg
Estearato de magnesio	4 mg

Ejemplo 3 - Composición de cápsulas

- 5 Se produce una forma farmacéutica oral para administrar uno de los compuestos de la presente invención, llenando una cápsula de gelatina dura de dos piezas convencional con los ingredientes en las proporciones mostradas en la tabla III a continuación.

Tabla III

INGREDIENTES	CANTIDADES
N-{(1S)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida (compuesto B)	300 mg
Manitol	250 mg
Talco	125 mg
Estearato de magnesio	8 mg

Ejemplo 4 - Composición de comprimidos

- 10 La sacarosa, celulosa microcristalina y los compuestos de la combinación de la invención, mostrados en la siguiente tabla IV, se mezclan y granulan en las proporciones mostradas en una solución de gelatina al 10%. Los gránulos húmedos se tamizan, se secan, se mezclan con el almidón, el talco y el ácido esteárico, y después se tamizan y se comprimen en un comprimido.

Tabla IV

INGREDIENTES	CANTIDADES
Metanosulfonato de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (la sal de metanosulfonato del compuesto A)	100 mg
N-{(1S)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida (compuesto B)	300 mg
Celulosa microcristalina	300 mg
Sacarosa	10 mg
Almidón	40 mg
Talco	20 mg
Ácido esteárico	5 mg

- 15
- 20 Ejemplo 5 - Composición de comprimidos
- La sacarosa, celulosa microcristalina y uno de los compuestos de la combinación de la invención, mostrados en la siguiente tabla V, se mezclan y granulan en las proporciones mostradas en una solución de gelatina al 10%. Los gránulos húmedos se tamizan, se secan, se mezclan con el almidón, el talco y el ácido esteárico, y después se tamizan y se comprimen en un comprimido.

Tabla V

INGREDIENTES	CANTIDADES
Metanosulfonato de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (la sal de metanosulfonato del compuesto A)	100 mg
Celulosa microcristalina	30 mg
Sacarosa	4 mg
Almidón	2 mg
Talco	1 mg
Ácido esteárico	0,5 mg

Ejemplo 6 - Composición de comprimidos

5 La sacarosa, celulosa microcristalina y uno de los compuestos de la combinación de la invención, mostrados en la siguiente tabla VI, se mezclan y granulan en las proporciones mostradas en una solución de gelatina al 10%. Los gránulos húmedos se tamizan, se secan, se mezclan con el almidón, el talco y el ácido esteárico, y después se tamizan y se comprimen en un comprimido.

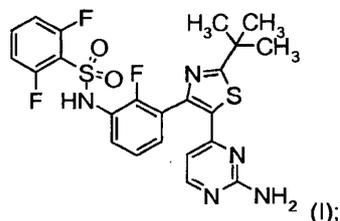
Tabla VI

INGREDIENTES	CANTIDADES
N-{{(1S)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida (compuesto B)	300 mg
Celulosa microcristalina	300 mg
Sacarosa	40 mg
Almidón	20 mg
Talco	10 mg
Ácido esteárico	5 mg

REIVINDICACIONES

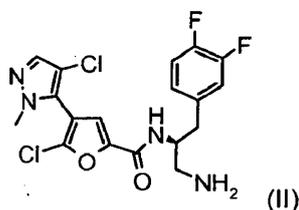
1. Una combinación que comprende:

(i) un compuesto de estructura (I):



5 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y

(ii) un compuesto de estructura (II):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 2. Una combinación según la reivindicación 1, donde el compuesto de estructura (I) está en forma de una sal de metanosulfonato.

3. Un kit de combinación que comprende una combinación según la reivindicación 1 o reivindicación 2, junto con un vehículo o vehículos farmacéuticamente aceptables.

15 4. Uso de una combinación según la reivindicación 1 o reivindicación 2, o de un kit de combinación según la reivindicación 3, en la fabricación de un medicamento o medicamentos para el tratamiento del cáncer y/o síndromes precancerosos.

5. Una combinación o kit de combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para usar en el tratamiento del cáncer o síndromes precancerosos.

20 6. Una combinación o kit de combinación para usar en el tratamiento del cáncer o síndromes precancerosos, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables,

en donde la combinación se administra en un periodo especificado, y

en donde la combinación se administra durante un periodo de tiempo.

25 7. Una combinación o kit de combinación para usar según la reivindicación 6, en donde la cantidad de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se selecciona de 10 mg a 300 mg, y esta cantidad se administra de 1 a 3 veces al día, y la cantidad de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se selecciona de 10 mg a 300 mg, y esta cantidad se administra una vez al día.

30 8. Una combinación o kit de combinación para usar según la reivindicación 6, en donde el metanosulfonato de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida y la *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en el espacio de 12 horas uno de otro, durante de 1 a 3 días consecutivos, seguido de la administración del metanosulfonato de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida de 3 a 7 días consecutivos, opcionalmente seguido de uno o más ciclos de dosificación repetida.

9. Una combinación o kit de combinación para usar según la reivindicación 7, en donde la cantidad de metanosulfonato de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida se selecciona de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 300 mg, y esta cantidad se administra 2 veces al día, y la cantidad de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se selecciona de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 300 mg, y esta cantidad se administra una vez al día.
10. Una combinación o kit de combinación para usar según la reivindicación 9, en donde el metanosulfonato de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida y la *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran durante al menos 7 días consecutivos.
11. Una combinación o kit de combinación para usar según la reivindicación 6, en donde el metanosulfonato de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida y la *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en el espacio de 12 horas uno de otro durante al menos 5 días consecutivos.
12. Una combinación o kit de combinación para usar según la reivindicación 10, en donde el metanosulfonato de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida y la *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran durante al menos 14 días consecutivos.
13. Una combinación o kit de combinación para usar según la reivindicación 6 o reivindicación 7, en donde el compuesto metanosulfonato de *N*-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida se administra primero con una dosis de ataque durante 1 a 3 días, seguido de la administración de dosis de mantenimiento del compuesto, y/o el compuesto *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-furanocarboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se administra primero con una dosis de ataque durante 1 a 3 días, seguido de la administración de dosis de mantenimiento del compuesto.
14. Un uso según la reivindicación 4, o una combinación o kit de combinación para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 13, en donde el cáncer tiene Ras/Raf natural o mutante y PI3K/PTEN natural o mutante.
15. Un uso según la reivindicación 4, o una combinación o kit de combinación para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 13, en donde el cáncer se selecciona de ovario, mama, pancreático y próstata.