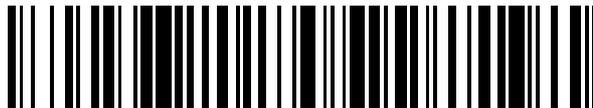


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 541 870**

21 Número de solicitud: 201331923

51 Int. Cl.:

A61K 31/445 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

27.12.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

27.07.2015

56 Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2014/000222

71 Solicitantes:

**SERVICIO ANDALUZ DE SALUD (100.0%)
Avda. de la Constitución, 18
41071 Sevilla ES**

72 Inventor/es:

SALINAS MARTÍN, Manuel Vicente

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

54 Título: **Uso de antagonistas no peptídicos de NK1 en una determinada dosis para el tratamiento del cáncer**

57 Resumen:

Uso de antagonistas no peptídicos de NK1 en una determinada dosis para el tratamiento del cáncer.

Uso del antagonista no peptídico del receptor NK1, preferiblemente Aprepitant, para el tratamiento del cáncer en dosis determinadas. La presente invención describe además composiciones farmacéuticas que comprendan dichos agentes, solos o en combinación con al menos otro principio activo, para el tratamiento del cáncer.

ES 2 541 870 A1

DESCRIPCIÓN

Uso de antagonistas no peptídicos de NK1 en una determinada dosis para el tratamiento del cáncer.

Campo de la invención

5

La presente invención se encuentra dentro del campo de la biología molecular aplicada a la medicina, la farmacología y la oncología. Específicamente, está relacionada con el uso de agentes antitumorales, más específicamente antagonistas no peptídicos de los receptores NK1, en unas determinadas dosis, para la fabricación de medicamentos de utilidad en el tratamiento del cáncer, en mamíferos, y más preferiblemente en humanos.

10

Antecedentes de la invención

Los receptores NK1 (receptores neuropeptídicos de la Sustancia P y de las taquicininas), están ampliamente distribuidos en las células del organismo. Se ha constatado su presencia en el sistema nervioso central y periférico de los mamíferos, en el aparato digestivo, en el sistema circulatorio, en las células de estirpe hematopoyética y de respuesta inflamatoria y/o inmunitaria, así como en los tejidos blandos y especialmente, en el endotelio vascular. Actualmente se conocen numerosos procesos biológicos en cuya regulación están involucrados los receptores NK1.

20

La Sustancia P (SP) es el agonista preferente del receptor NK1, es un undecapéptido producido de forma natural en los mamíferos, pertenece a la familia de las taquicininas y su secuencia fue descrita por Veber *et al.*, (US 4,680,283). La familia de las taquicininas también incluye otros péptidos como Neurokinina A, Neurokinina B, Neuropeptido K, Neuropeptido Gamma y Hemokinina I, entre otros.

25

Ha sido ampliamente referida en la bibliografía científica la implicación de la SP y de otras taquicininas en la etiopatogenia de diversas enfermedades del sistema nervioso humano como la Enfermedad de Alzheimer, Esclerosis Múltiple, Enfermedad de Parkinson, ansiedad y depresión (Barker *et al.*, 1996. *Neurosci. Res.* 7, 187-214; Kramer *et al.*, 1998. *Science* 11;281(5383),1640-5). También se ha comprobado la implicación de las taquicininas en la etiopatogenia de diversas enfermedades con componente inflamatorio como la artritis reumatoide, el asma, la rinitis alérgica, las enfermedades inflamatorias intestinales como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn (Maggi *et al.*, 1993. *Journal of Autonomic Pharmacology* 13, 23-93).

35

En este sentido, se han desarrollado antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 como medicamentos para el tratamiento de diversos desórdenes del sistema nervioso central como la depresión, la psicosis y la ansiedad (WO 95/16679, WO 95/18124, WO 95/23798 y WO 01/77100). Se ha descrito que el uso de antagonistas selectivos del receptor NK1 es útil en el tratamiento de las náuseas y el vómito inducido por quimioterápicos antineoplásicos, así como en el tratamiento de ciertas formas de incontinencia urinaria (Quartara *et al.*, 1998. *Neuropeptides* 32(1), 1-49; Doi *et al.*, 1999. *Eur. J. Pharmacol.* 383(3), 297-303).

5

10

En un trabajo publicado en 2003 (Giardina *et al.*, 2003. *IDrugs* 6(8), 758-72.), se hace una revisión de las patentes más recientes sobre antagonistas de receptores NK1. Se describen las moléculas de los más importantes fabricantes mundiales con indicación de sus posibles aplicaciones entre las que cabe destacar: antidepresivo, antiinflamatorio, ansiolítico, antiemético, tratamiento de la colitis ulcerosa y otros.

15

Se ha demostrado que los antagonistas del receptor NK1 y de la SP pueden inhibir la proliferación del carcinoma de células pulmonares (Orosz *et al.*, 1995. *Int. J. Cancer* 60(1), 82-7.; Bunn *et al.*, 1994. *Cancer Res.* 54(13), 3602-10), tumores cerebrales (Palma *et al.*, 2000. *Life Sci.* 67(9), 985-1001), APUDOMAS (tumores de células enterocromafines; patente EP 773026), carcinomas prostáticos (patente WO 2001001922), carcinomas de estómago y colon (Rosso *et al.*, 2008. *Tumour Biol.* 29(4), 245-54), melanoma (Muñoz *et al.*, 2010. *Lab. Invest.* 90(8), 1259-69).

20

Diversos estudios con antagonistas específicos de los receptores de la neurokinina NK como el CP-96341-1 (Pfizer), MEN 11467, SR 48968 (Sanofi) y MEN 11420 (Nepadutant) han demostrado la eficacia de los mismos en el bloqueo de la proliferación celular (Singh *et al.*, 2000. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97(1), 388-93; y Bigioni *et al.*, 2005. *Anticancer Drugs* 16(10), 1083-9.).

25

30

La patente ES 2246687 reivindica la utilización de los antagonistas no peptídicos de receptores NK1 y de la SP en la elaboración de una composición farmacéutica para la producción de apoptosis en células tumorales de mamíferos.

35

En la génesis y desarrollo del cáncer no sólo intervienen mecanismos moleculares propios de las células tumorales, sino que tienen gran importancia las células que rodean el tumor (específicamente las células del estroma y las células inflamatorias), así como las

interacciones que tienen lugar entre las células tumorales y estas células circundantes al tumor (McAllister *et al.*, 2010. *J. Clin. Oncol.* 28(26),4022-8; Ikushima *et al.*, 2010. *Nat. Rev. Cancer* 10(6), 415-24). En este sentido se ha publicado que algunas sustancias, por ejemplo el factor nuclear NF-KB (factor nuclear kappa B), SPARC (del término en inglés “secreted protein acidic, cysteine-rich”), TGF- α y TGF β (factores de crecimiento transformantes α y β , respectivamente) o las Metaloproteasas (MMPs), están presentes en el microambiente tumoral y son de gran importancia en la génesis y la progresión de los tumores (Coussens *et al.*, 2002. *Nature* 19-26; 420(6917), 860-7; Berzofsky *et al.*, 2004. *J. Clin. Invest.* 113,1515-1525; Carmeliet *et al.*, 2000. *Nature* Sep 14;407(6801), 249-57.; Hanahan *et al.*, 2000. *Cell* Jan 7;100(1), 57-70).

Es conocido que en las células que rodean el tumor (específicamente las células del estroma y las células inflamatorias) expresan una gran cantidad de receptor NK1 y que los antagonistas del receptor NK1 modulan la producción de estas sustancias por las células que rodean a los tumores cancerosos, impidiendo la supervivencia y progresión de estos tumores (patente PCT/ES2012/070865).

Por lo tanto y en conclusión, en la actualidad son conocidos en el estado del arte, los siguientes hechos:

1. Que los receptores NK1 están ampliamente difundidos en el organismo del ser humano.
2. Que las taquicininas y en concreto la SP actúan sobre los receptores NK1.
3. Que es posible la utilización de antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de diversos desórdenes del sistema nervioso central como la depresión, la psicosis y la ansiedad lo que ha sido objeto de reivindicación en diversas solicitudes de patentes (WO 95/16679, WO 95/18124, WO 95/23798 y WO 01/77100).
4. Que la utilización de antagonistas no peptídicos del receptor NK1 ha demostrado efectos sobre las células tumorales, que se traducen en su muerte celular por apoptosis (ES 2246687), en cultivos in vitro de células tumorales.
5. Que, como ha quedado dicho, la patente ES 2246687 reivindica el uso de antagonistas no peptídicos de receptores NK1 para inducir muerte y apoptosis en las células tumorales (y enumera un determinado número de los mismos, de forma concreta). Por lo tanto, no incluye los efectos que los antagonistas no peptídicos del receptor NK1 pueda realizar a nivel de las sustancias y células que componen el

microambiente tumoral y que son de crucial importancia para la génesis, el desarrollo y la progresión de los tumores.

- 5 6. Se ha demostrado la presencia de receptores NK1 en las células hemáticas involucradas en la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria, en las células de la matriz estromal y en las células propias de la vascularización que rodean a las células tumorales. Se sabe que las células estromales, las células hemáticas involucradas en la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria y las células propias de la vascularización influyen en la evolución de los tumores malignos.
- 10 7. Se ha demostrado que los antagonistas de los receptores NK1 pueden impedir la supervivencia y la progresión de los tumores mediante la modulación del funcionamiento de las células del microambiente.

No obstante, los precedentes conocidos, que incluyen la utilización de los antagonistas no peptídicos de receptores NK1 para la producción de muerte (apoptosis) en las células tumorales y la modificación del ambiente peritumoral mediante la inducción de cambios en las células que componen dicho ambiente y en las sustancias que secretan las mismas, con el objeto de impedir o dificultar la génesis, el desarrollo o la progresión de los tumores, en la actualidad, existe controversia sobre el efecto del uso “in vivo” de los antagonistas de los receptores NK1 para el tratamiento de la enfermedad tumoral cancerosa (Harford-Wright *et al.*, *Drug Discovery*, 2013, 8, 13-23). En este sentido, los datos publicados “in vivo” son contradictorios (Palma C, *et al.*, *Br J Cancer* 2000; 82: 480-7; Bigioni M, *et al. Anticancer Drugs* 2005, 16, 1083-9), de manera que en algunos casos el uso de antagonistas del receptor NK1 (como Aprepitant) produce reducción del tamaño de los tumores en modelos experimentales animales (in vivo) y en otros casos no lo produce. En concreto, en un reciente trabajo publicado, el uso de Aprepitant a dosis de 3mg por kilogramo de peso y día, no produce reducción en el tamaño de los tumores del cerebro en modelos de experimentación animal en ratones (Lewis KM, *et al.*, *Anti-Cancer Drugs* 2013, 24, 344–354).

30 Por lo tanto, la efectividad de Aprepitant como tratamiento de los tumores cancerosos en animales (incluido el ser humano) no es un efecto “universal” sino dependiente de la dosis y del tipo de tumor.

Así pues, el objeto de la presente invención así como la ventaja técnica que aporta, es la utilización de antagonistas no peptídicos de receptores NK1 para el tratamiento del cáncer, en un rango de dosis determinado, para la fabricación de un medicamento o composición

farmacéutica, por vía de administración adecuada y a dosis adecuadas, de utilidad en el tratamiento terapéutico del cáncer por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre.

5 El hecho de que la invención incida en el tratamiento del cáncer a través de la utilización de dosis adecuadas para reducir el tamaño de los tumores, impedir su desarrollo y eventualmente, inducir su desaparición, permite ajustar las dosis efectivas de los agentes anti-tumorales tanto basados en quimioterapia como en radioterapia, así como la propia naturaleza de las combinaciones a efectuar con las mismas. Ello conlleva un tratamiento
10 más eficaz, con un más amplio espectro en los tumores a tratar, a dosis eventualmente más ajustadas, lo que implica menores efectos secundarios asociados y una mayor calidad de vida para los pacientes durante y post-tratamiento.

Breve descripción de la invención

15

Un **primer aspecto** de la presente invención se refiere al uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1 a dosis comprendidas entre 5 y 120 mg/kg de peso al día, de ahora en adelante antagonista no peptídico del receptor NK1 en una dosis determinada de la invención, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un
20 mamífero. En una realización preferida de este aspecto de la invención, la dosis está comprendida entre 8 y 100 mg/kg de peso al día. Aún más preferiblemente, la dosis está comprendida entre 10-80 mg/kg de peso al día.

En otra realización preferida, el antagonista no peptídico del receptor NK1 se selecciona de
25 la lista que consiste en: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant, Lanepitant, LY-686017, L-733,060, L-732,138, L-703,606, WIN 62,577, CP-122721, TAK-637, R673, CP-100263, WIN 51708, CP-96345, L-760735, CP-122721, L-758298, L-741671, L-742694, CP-99994, T-2328, o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más específica son especialmente preferidos los antagonistas seleccionados de entre:
30 Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant y Lanepitant, o cualquiera de sus combinaciones. Aún mucho más preferiblemente, el antagonista no peptídico del receptor NK1 es el Aprepitan.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el cáncer se selecciona de la
35 lista que comprende en: carcinoma gástrico, carcinoma de colon, carcinoma de páncreas, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de endometrio, coriocarcinoma,

- carcinoma de cérvix uterino, carcinoma de pulmón, carcinoma de tiroides, carcinoma de vejiga, carcinoma de próstata, tumores gliales del sistema nervioso central, sarcomas, melanomas, cánceres embrionarios y cánceres hematológicos. En otra realización más preferida, el cáncer cursa con alteración del ambiente peritumoral. En otra realización más preferida, el cáncer que cursa con alteración del ambiente peritumoral muestra un aumento de la síntesis de los marcadores seleccionados de la lista que consiste en: NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o combinaciones de los mismos.
- 10 En otra realización preferida, el mamífero es humano. Aún más preferiblemente, las células del tumor objeto de esta invención sobreexpresan los marcadores NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o combinaciones de los mismos.
- 15 Un **segundo aspecto** de la invención se refiere al uso de una preparación combinada que comprende un antagonista no peptídico del receptor NK1 en una dosis determinada de la invención, en combinación con al menos un principio activo, de ahora en adelante principio activo B de la invención, que induce apoptosis en las células tumorales, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer. En una realización preferida, el antagonista no peptídico del receptor NK1 en una dosis determinada se selecciona de la lista que consiste en: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant, Lanepitant, LY-686017, L-733,060, L-732,138, L-703,606, WIN 62,577, CP-122721, TAK-637, R673, CP-100263, WIN 51708, CP-96345, L-760735, CP-122721, L-758298, L-741671, L-742694, CP-99994, T-2328, o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más específica son especialmente preferidos los antagonistas seleccionados de entre: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant y Lanepitant, o cualquiera de sus combinaciones. Aún mucho más preferiblemente, el antagonista no peptídico del receptor NK1 es el Aprepitan. En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el principio activo que induce apoptosis en las células tumorales se selecciona de la lista que consiste en: Clorambucil, Melfalán, Aldesleukina, 6-Mercaptopurina, 5-Fluoruracilo, Ara-c, Bexaroteno, Bleomicina, Capecitabina, Carboplatino, Cisplatino, Docetaxel, Doxorubicina, Epirubicina, Fludarabina, Irinotecan Metotrexato, Mitoxantrona Oxaliplatino, Paclitaxel, Rituximab, Vinblastina, Etopósido, Tenipósido, Vincristina, Vinorelbina, Imatinib, Erlotinib, Cetuximab, Trastuzumab, o cualquiera de sus combinaciones.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el antagonista no peptídico del receptor NK1 de la invención y el principio activo B de la invención (principio activo que induce apoptosis) se administra por separado, conjunta o secuencialmente, pudiendo combinarse adicionalmente con al menos otro agente anticancerígeno seleccionado de entre un agente de quimioterapia o un agente de radioterapia.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el cáncer se selecciona de la lista que consiste en: carcinoma gástrico, carcinoma de colon, carcinoma de páncreas, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de endometrio, coriocarcinoma, carcinoma de cérvix uterino, carcinoma de pulmón, carcinoma de tiroides, carcinoma de vejiga, carcinoma de próstata, tumores gliales del sistema nervioso central, sarcomas, melanomas, cánceres embrionarios y cánceres hematológicos. En otra realización más preferida, el cáncer cursa con alteración del ambiente peritumoral. En otra realización más preferida, el cáncer que cursa con alteración del ambiente peritumoral muestra un aumento de la síntesis de los siguientes marcadores seleccionados de la lista que comprende: NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o combinaciones de los mismos.

En otra realización preferida, el mamífero es humano. Aún más preferiblemente, las células del tumor objeto de esta invención sobreexpresan los marcadores NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o combinaciones de los mismos.

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a una composición, de ahora en adelante composición de la invención, que comprende antagonista no peptídico del receptor NK1 en una dosis determinada de la invención. En una realización preferida, el antagonista no peptídico del receptor NK1 se selecciona de la lista que consiste en: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant, Lanepitant, LY-686017, L-733,060, L-732,138, L-703,606, WIN 62,577, CP-122721, TAK-637, R673, CP-100263, WIN 51708, CP-96345, L-760735, CP-122721, L-758298, L-741671, L-742694, CP-99994, T-2328, o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más específica especialmente preferidos los antagonistas seleccionados de entre: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant, Lanepitant, o cualquiera de sus combinaciones. Aún mucho más preferiblemente, el antagonista no peptídico del receptor NK1 es el Aprepitan.

35

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la composición de la invención es una composición farmacéutica. Más preferiblemente, la composición puede comprender además un vehículo y/o excipientes farmacéuticamente aceptables. Aún más preferiblemente, adicionalmente comprende al menos otro principio activo (principio activo B). Preferiblemente, el principio activo B se selecciona de la lista que consiste en: Clorambucil, Melfalán, Aldesleukina, 6-Mercaptopurina, 5-Fluoruracilo, Ara-c, Bexaroteno, Bleomicina, Capecitabina, Carboplatino, Cisplatino, Docetaxel, Doxorubicina, Epirubicina, Fludarabina, Irinotecan, Metotrexato, Mitoxantrona Oxaliplatino, Paclitaxel, Rituximab, Vinblastina, Etopósido, Tenipósido, Vincristina, Vinorelbina, Imatinib, Erlotinib, Cetuximab Trastuzumab, o cualquiera de sus combinaciones.

En otra realización preferida de la presente invención la duración del tratamiento es de entre 7 y 90 días, aún más preferiblemente, es de 7, 15, 30 o 90 días. Además, tanto el antagonista no peptídico del receptor NK1 en una dosis determinada de la invención, como la preparación combinada y la composición de la invención, se pueden administrar una o varias veces al día, por ejemplo, una, dos, tres, cuatro o cinco veces al día. Preferiblemente el número de administraciones será de tres veces al día.

Descripción de las figuras

20

Figura 1. Los antagonistas de los receptores NK1 a dosis bajas (rango de concentración nanomolar) aumentan la proliferación de las células tumorales de adenocarcinoma de colon humano (línea celular SW-403).

25

Figura 2. Los antagonistas de los receptores NK1 a dosis bajas (rango de concentración nanomolar) aumentan la proliferación de las células tumorales de carcinoma de mama humano (línea celular MT-3).

30

Figura 3. Los antagonistas de los receptores NK1 a dosis bajas (rango de concentración nanomolar) aumentan la proliferación de las células tumorales de carcinoma de pulmón humano (línea celular A-427).

35

Figura 4. Los antagonistas de los receptores NK1 a dosis bajas (rango de concentración nanomolar) aumentan la proliferación de las células tumorales de los sarcomas (fibrosarcoma humano, línea celular HT-1080).

Figura 5. Los antagonistas de los receptores NK1 a dosis bajas (rango de concentración nanomolar) aumentan la proliferación de las células tumorales de glioma humano (línea celular GAMG).

5 Figura 6. Los antagonistas de los receptores NK1 a dosis bajas (rango de concentración nanomolar) aumentan la proliferación de las células tumorales de linfoma (linfoma B humano, línea celular BC-1).

10 Figura 7. Los antagonistas de los receptores NK1 a dosis bajas (rango de concentración nanomolar) aumentan la proliferación de las células tumorales de melanoma humano (línea celular MEL HO).

15 Figura 8. Los antagonistas de los receptores NK1 a dosis bajas (rango de concentración nanomolar) aumentan la proliferación de las células tumorales de tumores embrionarios (neuroblastoma humano, línea celular Kelly).

Descripción detallada de la invención

20 Los ejemplos de la presente invención demuestran que los antagonistas no peptídicos de los receptores NK1, utilizados en dosis adecuadas, solos o en combinación con otros fármacos antitumorales y/o radioterapia, pueden inhibir el crecimiento de los tumores cancerosos.

25 Las modificaciones producidas en el microambiente peritumoral en mamíferos, incluido el ser humano, que se producen mediante el tratamiento con al menos antagonista no peptídico del receptor NK1, en dosis adecuadas, pueden resumirse en la modificación del inmunofenotipo de las células que conforman dicho microambiente, preferentemente, fibroblastos, células inflamatorias y células endoteliales vasculares, preferentemente en lo relacionado con la síntesis de moléculas clave en la progresión de los tumores, como por ejemplo, MMPs, NF-KB, TGF β y SPARC.

30 Otra de las modificaciones de dicho microambiente peritumoral, mediante el tratamiento con antagonistas no peptídicos de NK1, utilizados a dosis adecuadas, se refiere a la inhibición de la neoangiogénesis mediante la inhibición de la proliferación de las células endoteliales vasculares, factor determinante de la progresión de los tumores. Por lo tanto, el uso de
35 antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 da lugar a modificaciones en las células que componen el microambiente tumoral, células de estirpe fibroblástica (estroma), células

endoteliales vasculares (vasos) y células implicadas en la respuesta inflamatoria e inmune (que propician el crecimiento y la perpetuación de los tumores mediante la interacción entre las células del estroma y las del cáncer) siendo dichas modificaciones beneficiosas para el tratamiento del cáncer. Estos cambios en el microambiente tumoral están encaminados a
5 reducir el tamaño tumoral o a su eliminación completa, así como a impedir el desarrollo y la progresión de los mismos.

Por lo tanto, a efectos de la presente invención el antagonista del receptor NK1 utilizado a determinadas dosis, sólo, en combinación con otros antagonistas del receptor NK1 y/o otros
10 productos antitumorales y/o radioterapia, presenta la capacidad de modificar el ambiente peritumoral, según se ha definido previamente. Sin embargo, es necesario administrar los antagonistas en una dosis adecuada, ya que incluso, como se muestra en el ejemplo 13 de esta memoria, a determinadas dosis (concentraciones del rango nanomolar) los antagonistas del receptor NK1, en determinadas líneas celulares tumorales, inducen un
15 aumento de la proliferación de dichas células.

Por tanto, un **primer aspecto** de la presente invención se refiere al uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1 a dosis comprendidas entre 5 y 120 mg/kg de peso al día, de ahora en adelante antagonista no peptídico del receptor NK1 en una dosis determinada de
20 la invención, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un mamífero. En una realización preferida de este aspecto de la invención, la dosis está comprendida entre 8 y 100 mg/kg de peso al día. Aún más preferiblemente, la dosis está comprendida aún más preferiblemente entre 10-80 mg/kg de peso al día.

25 Como se usa aquí "antagonista no peptídico de los receptores NK1" significa cualquier sustancia de naturaleza no peptídica con un tamaño suficiente y conformación adecuada para unirse al receptor NK1 y así inhibir su funcionamiento normal, incluyendo el hecho de evitar que la SP u otros agonistas de estos receptores, se unan a los mencionados receptores. Preferentemente, en la presente invención se han ensayado los siguientes
30 antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 comerciales: L-733,060 ((2S,3S)-3-[(3,5-bis(Trifluoromethyl)phenyl)methoxy]-2-phenylpiperidine hydrochloride) (Sigma-Aldrich), L-732,138 (N-Acetyl-L-tryptophan 3,5-bis(trifluoromethyl)benzyl ester) (Sigma-Aldrich), L-703,606 (cis-2-(Diphenylmethyl)-N-[(2-iodophenyl)methyl]-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-amine oxalate salt) (Sigma-Aldrich), WIN 62,577 (Sigma-Aldrich), CP-122721 (Pfizer), Aprepitant ó
35 MK 869 ó L-754030 (MSD), TAK-637 (Takeda/Abbot), Vestipitant ó GW597599 (GSK), Casopitant ó GW679769 (GSK) y R673 (Roche). CP-100263, WIN 51708, CP-96345, L-

760735. De manera similar, se pueden utilizar otros compuestos antagonistas no peptídicos de receptores NK1 y de la SP tales como: Vofopitant ó GR-205171 (Pfizer), Ezlopitant ó CJ - 11974 (Pfizer), CP-122721 (Pfizer), L-758298 (MSD), L-741671, L-742694, CP-99994, Lanepitant ó LY-303870, T-2328, LY-686017. Son preferidos los compuestos: Aprepitant ó 5 MK 869 ó L-754030 (MSD), Vestipitant ó GW597599 (GSK) y Casopitant ó GW679769 (GSK).

Por tanto, en otra realización preferida, el antagonista no peptídico del receptor NK1 se selecciona de la lista que consiste en: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, 10 Ezlopitant, Lanepitant, LY-686017, L-733,060, L-732,138, L-703,606, WIN 62,577, CP-122721, TAK-637, R673, CP-100263, WIN 51708, CP-96345, L-760735, CP-122721, L-758298, L-741671, L-742694, CP-99994, T-2328, o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más específica son especialmente preferidos los antagonistas seleccionados de entre: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant y Lanepitant, o cualquiera 15 de sus combinaciones. Aún mucho más preferiblemente, el antagonista no peptídico del receptor NK1 es el Aprepitan.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el cáncer se selecciona de la lista que comprende en: carcinoma gástrico, carcinoma de colon, carcinoma de páncreas, 20 carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de endometrio, coriocarcinoma, carcinoma de cérvix uterino, carcinoma de pulmón, carcinoma de tiroides, carcinoma de vejiga, carcinoma de próstata, tumores gliales del sistema nervioso central, sarcomas, melanomas, cánceres embrionarios y cánceres hematológicos. En otra realización más preferida, el cáncer cursa con alteración del ambiente peritumoral. En otra realización más 25 preferida, el cáncer que cursa con alteración del ambiente peritumoral muestra un aumento de la síntesis de los marcadores seleccionados de la lista que consiste en: NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o combinaciones de los mismos.

30 En otra realización preferida, el mamífero es humano. Aún más preferiblemente, las células de los tumores tratados con el objeto de la invención sobreexpresan los marcadores NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o cualquiera de las combinaciones de los mismos.

35 Un **segundo aspecto** de la invención se refiere al uso de una preparación combinada que comprende un antagonista no peptídico del receptor NK1 en una dosis determinada de la

invención, en combinación con al menos un principio activo, de ahora en adelante principio activo B de la invención, que induce apoptosis en las células tumorales, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer. En una realización preferida, el antagonista no peptídico del receptor NK1 se selecciona de la lista que consiste en: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant, Lanepitant, LY-686017, L-733,060, L-732,138, L-703,606, WIN 62,577, CP-122721, TAK-637, R673, CP-100263, WIN 51708, CP-96345, L-760735, CP-122721, L-758298, L-741671, L-742694, CP-99994, T-2328, o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más específica son especialmente preferidos los antagonistas seleccionados de entre: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant y Lanepitant, o cualquiera de sus combinaciones. Aún mucho más preferiblemente, el antagonista no peptídico del receptor NK1 es el Aprepitant. En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el principio activo que induce apoptosis en las células tumorales se selecciona de la lista que consiste en: Clorambucil, Melfalán, Aldesleukina, 6-Mercaptopurina, 5-Fluoruracilo, Ara-c, Bexaroteno, Bleomicina, Capecitabina, Carboplatino, Cisplatino, Docetaxel, Doxorubicina, Epirubicina, Fludarabina, Irinotecan, Metotrexato, Mitoxantrona, Oxaliplatino, Paclitaxel, Rituximab, Vinblastina, Etopósido, Tenipósido, Vincristina, Vinorelbina, Imatinib, Erlotinib, Cetuximab, Trastuzumab, o cualquiera de sus combinaciones.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el antagonista no peptídico del receptor NK1 de la invención y el principio activo B de la invención (principio activo que induce apoptosis) se administra por separado, conjunta o secuencialmente, pudiendo combinarse adicionalmente con al menos otro agente anticancerígeno seleccionado de entre un agente de quimioterapia o un agente de radioterapia.

Antagonistas no peptídicos del receptor NK1 en una dosis determinada se refiere a dosis comprendidas entre 5 y 120 mg/kg de peso al día, y preferiblemente comprendida entre 8 y 100 mg/kg de peso al día. Aún más preferiblemente, la dosis está comprendida entre 10-80 mg/kg de peso al día.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el cáncer se selecciona de la lista que comprende en: carcinoma gástrico, carcinoma de colon, carcinoma de páncreas, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de endometrio, coriocarcinoma, carcinoma de cérvix uterino, carcinoma de pulmón, carcinoma de tiroides, carcinoma de vejiga, carcinoma de próstata, tumores gliales del sistema nervioso central, sarcomas, melanomas, cánceres embrionarios y cánceres hematológicos. En otra realización más

preferida, el cáncer cursa con alteración del ambiente peritumoral. En otra realización más preferida, el cáncer que cursa con alteración del ambiente peritumoral muestra un aumento de la síntesis de los siguientes marcadores seleccionados de la lista que comprende: NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9,
5 MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o combinaciones de los mismos.

En otra realización preferida, el mamífero es humano. Aún más preferiblemente, las células de los tumores tratados con el objeto de la invención sobreexpresan los marcadores NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9,
10 MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o cualquiera de las combinaciones de los mismos.

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a una composición, de ahora en adelante composición de la invención, que comprende antagonista no peptídico del receptor NK1 una dosis determinada de la invención. En una realización preferida, el antagonista no peptídico
15 del receptor NK1 se selecciona de la lista que consiste en: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant, Lanepitant, LY-686017, L-733,060, L-732,138, L-703,606, WIN 62,577, CP-122721, TAK-637, R673, CP-100263, WIN 51708, CP-96345, L-760735, CP-122721, L-758298, L-741671, L-742694, CP-99994, T-2328, o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más específica son especialmente preferidos los
20 antagonistas seleccionados de entre: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant y Lanepitant, o cualquiera de sus combinaciones. Aún mucho más preferiblemente, el antagonista no peptídico del receptor NK1 es el Aprepitan.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la composición de la invención
25 es una composición farmacéutica. Más preferiblemente, la composición puede comprender además un vehículo y/o excipientes farmacéuticamente aceptables. Aún más preferiblemente, adicionalmente comprende al menos otro principio activo (principio activo B). Preferiblemente, el principio activo B se selecciona de la lista que consiste en: Clorambucil, Melfalán, Aldesleukina, 6-Mercaptopurina, 5-Fluoruracilo, Ara-c, Bexaroteno,
30 Bleomicina, Capecitabina, Carboplatino, Cisplatino, Docetaxel, Doxorubicina, Epirubicina, Fludarabina, Irinotecan Metotrexato, Mitoxantrona Oxaliplatino, Paclitaxel, Rituximab, Vinblastina, Etopósido, Tenipósido, Vincristina, Vinorelbina, Imatinib, Erlotinib, Cetuximab Trastuzumab, o cualquiera de sus combinaciones.

35 En otra realización preferida se refiere al uso de una composición farmacéutica que comprende un antagonista no peptídico del receptor NK1 en la elaboración de un

medicamento en el tratamiento del cáncer, donde el antagonista no peptídico del receptor NK1 se encuentra en la sangre en una concentración necesaria para alcanzar concentraciones en suero iguales o superiores a 100 nanomolar, Aún más preferiblemente, el antagonista no peptídico del receptor NK1 se encuentra en la sangre en una
5 concentración necesaria para alcanzar concentraciones en suero iguales o superiores a 1 micromolar.

Debe entenderse que la composición farmacéutica o medicamento que comprenda al menos un antagonista no peptídico de los receptores NK1 a una dosis determinada, se presenta en
10 una forma aceptable farmacéuticamente para ser administrada a un individuo de forma directa, preferentemente mediante administración intravenosa, oral, parenteral, o por cualquier otra vía. La administración intravenosa se refiere directamente a la aplicación del antagonista o de una composición farmacéutica que lo comprenda, directamente en el torrente sanguíneo del paciente. La administración oral puede implicar la deglución, de
15 modo que el antagonista, así como una composición farmacéutica que lo comprenda, entra en el tracto gastrointestinal, o puede utilizarse la administración bucal o sublingual mediante las cuales el compuesto entra en el torrente sanguíneo directamente desde la boca. La administración parenteral se refiere a vías de administración distintas de la entérica, transdérmica o por inhalación, y típicamente es por inyección o infusión. La administración
20 parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intramuscular y/o subcutánea.

El término "medicamento" o "composición farmacéutica", tal y como se usa en esta memoria, hace referencia a cualquier sustancia usada para prevención, diagnóstico, alivio, tratamiento o curación de enfermedades en el hombre y los animales. En el contexto de la presente
25 invención, la enfermedad es el cáncer, preferentemente de estirpe epitelial (carcinomas), de estirpe glial del sistema nervioso central, de estirpe mesenquimal (sarcomas), de estirpe melánica (melanoma), de origen embrionario (por ejemplo neuroblastoma) o de estirpe hemato-linfoide (linfomas y leucemias).

30 Debe enfatizarse que el término "preparación combinada" o también denominada "yuxtaposición", en esta memoria, significa que los componentes de la preparación combinada no necesitan encontrarse presentes como unión, por ejemplo en una composición, para poder encontrarse disponibles para su aplicación separada o secuencial. De esta manera, la expresión "yuxtapuesta" implica que no resulta necesariamente una
35 combinación verdadera, a la vista de la separación física de los componentes.

Como se emplea aquí, el término “principio activo”, “substancia activa”, “substancia farmacéuticamente activa”, “ingrediente activo” ó “ingrediente farmacéuticamente activo” significa cualquier componente que potencialmente proporcione una actividad farmacológica u otro efecto diferente en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento, o prevención de una enfermedad, o que afecta a la estructura o función del cuerpo del hombre u otros animales. El término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la elaboración del fármaco y están presentes en el mismo de una forma modificada prevista que proporciona la actividad específica o el efecto.

5

10

El tratamiento descrito en la presente invención es útil para pacientes afectados de cáncer, en estado asintomático, sintomático, en tratamiento neoadyuvante (tratamiento antes de cirugía), en tratamiento adyuvante (tratamiento complementario después de la cirugía, cuando no hay tumor macroscópico detectable) y en tratamiento de la enfermedad en estadio metastásico.

15

Una persona experta en la materia adaptará la composición dependiendo de la forma particular de administración. En el caso de administrar un anticuerpo purificado, la administración oral es el método preferido y se consigue preferiblemente a través de formas de dosificación sólidas, que incluyen cápsulas, tabletas, pastillas, polvos y gránulos, entre otros, o por formas de dosificación líquida. Las preparaciones del agente modificador del ambiente peritumoral para la administración parenteral preferentemente incluyen soluciones acuosas o no acuosas estériles, suspensiones o emulsiones, entre otras. El término “vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a un vehículo que debe estar aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o un gobierno estatal o enumerado en la

20

25

Farmacopea Estadounidense o la Farmacopea Europea, u otra farmacopea reconocida generalmente para su uso en animales, y más concretamente en humanos. De la misma manera, los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados variarán dependiendo de la forma de dosificación particular seleccionada. Además, los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados pueden seleccionarse para una función particular que pueden tener en la composición. Por ejemplo, ciertos excipientes farmacéuticamente aceptables pueden seleccionarse por su capacidad para facilitar la producción de formas de dosificación uniformes. Ciertos excipientes farmacéuticamente aceptables pueden seleccionarse por su capacidad para facilitar la producción de formas de dosificación estables. Ciertos excipientes farmacéuticamente aceptables pueden seleccionarse por su capacidad para facilitar el transporte del compuesto o compuestos de la invención una vez administrados al paciente desde un órgano o parte del cuerpo a otro órgano o parte del cuerpo. Ciertos excipientes

30

35

farmacéuticamente aceptables pueden seleccionarse por su capacidad para mejorar la aceptación por parte del paciente. Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen los siguientes tipos de excipientes, sin excluir otros conocidos en el estado de la técnica: diluyentes, cargas, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, deslizantes, 5 agentes de granulación, agentes de recubrimiento, agentes hidratantes, disolventes, co-disolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, edulcorantes, aromatizantes, agentes para enmascarar el sabor, agentes colorantes, agentes contra la formación de tortas, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes para aumentar la viscosidad, antioxidantes, conservantes, estabilizantes, tensioactivos y agentes tamponantes. El 10 especialista en la técnica apreciará que ciertos excipientes farmacéuticamente aceptables pueden realizar más de una función y pueden realizar funciones alternativas dependiendo de la cantidad de excipiente que esté presente en la formulación y qué otros ingredientes estén presentes en la formulación. Los especialistas tienen el conocimiento y habilidad en la técnica que les permite seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados 15 en las cantidades apropiadas para uso en la invención. Además, hay varios recursos disponibles para el especialista en la técnica que describen excipientes farmacéuticamente aceptables y pueden ser útiles en la selección de excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados. Los ejemplos incluyen Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited), y The 20 Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press).

La dosificación del ingrediente activo, en la presente invención, del antagonista no peptídico del receptor NK1, será seleccionada dependiendo del efecto terapéutico deseado, de la vía 25 de administración y de la duración del tratamiento. La dosis de administración y la frecuencia dependerán del tamaño, edad y condiciones de salud generales del individuo, teniendo en cuenta la posibilidad de efectos secundarios. La administración también dependerá del tratamiento simultáneo con otros fármacos y la tolerancia de cada individuo al fármaco administrado. Las personas expertas en la materia podrán establecer la dosis apropiada 30 usando procedimientos estándares. Se entiende que la dosis deberá ser la cantidad efectiva del principio activo, agente modulador del ambiente peritumoral, preferentemente antagonista no peptídico de NK1, en el sentido de que el tratamiento tenga como mínimo el mismo o mejor efecto que las terapias actuales en estos pacientes.

Por "cáncer" se entiende un tumor maligno de potencial crecimiento ilimitado que se expande localmente por invasión y sistémicamente por metástasis. En la presente invención, el antagonista no peptídico del receptor NK1 se administra a individuos con un cáncer.

5 A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos aquí usados tienen el mismo significado a los habitualmente entendidos por una persona experta en el campo de la invención. Métodos y materiales similares o equivalentes a los aquí descritos pueden ser usados en la práctica de la presente invención. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes, no tienen carácter limitativo y por lo
10 tanto no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Por el contrario, la palabra "consiste" y sus variantes, sí que presentan carácter limitativo, refiriéndose exclusivamente a las características técnicas, aditivo, componentes o pasos que la acompañan. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la
15 invención.

Ejemplos de la invención

A continuación, se muestran ejemplos a modo de ilustración, sin pretender que sean
20 limitativos de la presente invención, dónde se ponen de manifiesto las ventajas de la invención.

**Ejemplo 1. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día reduce el tamaño
25 de los tumores cancerosos de estirpe epitelial (carcinomas) en mamíferos.**

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día reducen el tamaño de los tumores de estirpe epitelial (carcinomas) en mamíferos, se implantaron células tumorales en
30 ratones y posteriormente fueron tratados con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, nu/nu Balb/c nude mice, proporcionados por Harlan Iberica Barcelona (Spain). Fueron mantenidos a 24 °C y condiciones estériles con comida y agua "ad libitum". Se les inyectaron 2×10^7 células
35 tumorales, correspondientes a carcinoma (carcinoma de pulmón humano, referencia HCC-44 suministradas por DSMZ) en 200 µl de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue

medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con 200µl de placebo (grupo control) y los ocho grupos restantes con dosis de 10 (grupo 1), 20 (grupo 2), 30 (grupo 3), 40 (grupo 4), 50 (grupo 5), 60 (grupo 6), 70 (grupo 7) y 80 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 28 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 1 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos ± desviación estándar) a los 7, 14, 21 y 28 días, de tratamiento, respectivamente con cada una de las dosis utilizadas.

10

Tabla 1. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

| Línea celular de carcinoma de pulmón referencia HCC-44. | 7 días | 14 días | 21 días | 28 días |
|---|--------|---------|---------|---------|
| Control | 230±6 | 270±5 | 310±6 | 340±8 |
| Grupo 1 (10 mg/Kg/día) | 210±2 | 190±4 | 165±6 | 135±3 |
| Grupo 2 (20 mg/Kg/día) | 205±8 | 170±3 | 145±4 | 110±4 |
| Grupo 3 (30 mg/Kg/día) | 185±4 | 150±6 | 135±5 | 105±2 |
| Grupo 4 (40 mg/Kg/día) | 155±5 | 130±4 | 120±4 | 95±4 |
| Grupo 5 (50 mg/Kg/día) | 130±4 | 115±7 | 105±6 | 85±6 |
| Grupo 6 (60 mg/Kg/día) | 110±3 | 95±8 | 80±7 | 65±4 |
| Grupo 7 (70 mg/Kg/día) | 95±4 | 80±6 | 65±8 | 40±7 |
| Grupo 8 (80 mg/Kg/día) | 70±4 | 55±7 | 40±6 | 25±5 |

15

Ejemplo 2. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día reduce el tamaño de los tumores cancerosos de estirpe glial (por ejemplo, astrocitomas) del sistema nervioso central en mamíferos.

20

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día reduce, el tamaño de los tumores de estirpe glial del sistema nervioso en mamíferos, se implantaron células

tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de estirpe glial del sistema nervioso central humano (Glioma humano; referencia GAMG; suministradas por DSMZ) en 200 μ l de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con 200 μ l de placebo (grupo control) y los ocho grupos restantes con dosis de 10 (grupo 1), 20 (grupo 2), 30 (grupo 3), 40 (grupo 4), 50 (grupo 5), 60 (grupo 6), 70 (grupo 7) y 80 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 28 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 2 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7, 14, 21 y 28 días, de tratamiento, respectivamente con cada una de las dosis utilizadas.

Tabla 2. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

| Línea celular de glioma referencia GAMG | 7 días | 14 días | 21 días | 28 días |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Control | 210 \pm 4 | 245 \pm 6 | 290 \pm 5 | 315 \pm 6 |
| Grupo 1 (10 mg/Kg/día) | 205 \pm 3 | 185 \pm 6 | 170 \pm 7 | 155 \pm 4 |
| Grupo 2 (20 mg/Kg/día) | 190 \pm 4 | 160 \pm 7 | 150 \pm 6 | 125 \pm 5 |
| Grupo 3 (30 mg/Kg/día) | 160 \pm 4 | 145 \pm 7 | 120 \pm 6 | 105 \pm 4 |
| Grupo 4 (40 mg/Kg/día) | 155 \pm 6 | 125 \pm 5 | 110 \pm 5 | 90 \pm 9 |
| Grupo 5 (50 mg/Kg/día) | 125 \pm 5 | 110 \pm 5 | 100 \pm 5 | 80 \pm 8 |
| Grupo 6 (60 mg/Kg/día) | 95 \pm 5 | 85 \pm 6 | 60 \pm 6 | 50 \pm 7 |
| Grupo 7 (70 mg/Kg/día) | 75 \pm 6 | 60 \pm 5 | 55 \pm 5 | 35 \pm 8 |
| Grupo 8 (80 mg/Kg/día) | 60 \pm 3 | 45 \pm 6 | 25 \pm 7 | 15 \pm 10 |

Ejemplo 3. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día reduce el tamaño de los tumores cancerosos de estirpe mesenquimal (sarcomas) en mamíferos.

5 Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día, reduce el tamaño de los tumores de estirpe glial del sistema nervioso en mamíferos, se implantaron células tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

10

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de estirpe mesenquimal (Fibrosarcoma humano; referencia HT-1080; suministradas por DSMZ) en 200 μ l de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con 200 μ l de placebo (grupo control) y los ocho grupos restantes con dosis de 10 (grupo 1), 20 (grupo 2), 30 (grupo 3), 40 (grupo 4), 50 (grupo 5), 60 (grupo 6), 70 (grupo 7) y 80 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 28 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 3 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7, 14, 21 y 28 días, de tratamiento, respectivamente con cada una de las dosis utilizadas.

25

Tabla 3. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

| Línea celular de fibrosarcoma referencia HT-1080. | 7 días | 14 días | 21 días | 28 días |
|--|---------------|----------------|----------------|----------------|
| Control | 255±5 | 270±3 | 310±4 | 340±7 |
| Grupo 1 (10 mg/Kg/día) | 220±4 | 205±4 | 195±6 | 170±6 |
| Grupo 2 (20 mg/Kg/día) | 195±5 | 180±5 | 165±7 | 150±7 |
| Grupo 3 (30 mg/Kg/día) | 175±5 | 155±6 | 135±5 | 140±4 |
| Grupo 4 (40 mg/Kg/día) | 160±4 | 150±3 | 120±5 | 110±6 |
| Grupo 5 (50 mg/Kg/día) | 145±5 | 135±7 | 100±3 | 100±7 |
| Grupo 6 (60 mg/Kg/día) | 135±7 | 120±6 | 90±8 | 85±4 |
| Grupo 7 (70 mg/Kg/día) | 120±8 | 100±4 | 85±6 | 80±7 |
| Grupo 8 (80 mg/Kg/día) | 100±4 | 90±8 | 70±8 | 65±9 |

5

Ejemplo 4. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día reduce el tamaño de los tumores cancerosos de estirpe hematológica (leucemias/linfomas) en mamíferos.

10

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día, reduce el tamaño de los tumores de estirpe glial del sistema nervioso en mamíferos, se implantaron células tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

15

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de estirpe hematológica (Linfoma humano; referencia BC-1; suministradas por DSMZ) en 200 μ l de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con 200 μ l de placebo (grupo control) y los ocho grupos restantes con dosis de 10 (grupo 1), 20 (grupo 2), 30 (grupo 3), 40 (grupo 4), 50

25

(grupo 5), 60 (grupo 6), 70 (grupo 7) y 80 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 28 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 4 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7, 14, 21 y 28 días, de tratamiento, respectivamente con cada una de las dosis utilizadas.

Tabla 4. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

10

| Línea celular de linfoma referencia BC-1. | 7 días | 14 días | 21 días | 28 días |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Control | 230 \pm 6 | 210 \pm 5 | 195 \pm 6 | 340 \pm 7 |
| Grupo 1 (10 mg/Kg/día) | 210 \pm 3 | 195 \pm 6 | 175 \pm 7 | 170 \pm 6 |
| Grupo 2 (20 mg/Kg/día) | 195 \pm 6 | 175 \pm 7 | 160 \pm 6 | 150 \pm 7 |
| Grupo 3 (30 mg/Kg/día) | 180 \pm 7 | 155 \pm 4 | 145 \pm 8 | 140 \pm 4 |
| Grupo 4 (40 mg/Kg/día) | 165 \pm 8 | 165 \pm 6 | 130 \pm 5 | 110 \pm 6 |
| Grupo 5 (50 mg/Kg/día) | 150 \pm 5 | 145 \pm 7 | 120 \pm 6 | 100 \pm 7 |
| Grupo 6 (60 mg/Kg/día) | 130 \pm 6 | 130 \pm 8 | 100 \pm 7 | 85 \pm 4 |
| Grupo 7 (70 mg/Kg/día) | 110 \pm 4 | 105 \pm 4 | 80 \pm 5 | 80 \pm 7 |
| Grupo 8 (80 mg/Kg/día) | 95 \pm 6 | 85 \pm 6 | 65 \pm 3 | 65 \pm 9 |

Ejemplo 5. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día reduce el tamaño de los tumores cancerosos de estirpe melánica (melanomas) en mamíferos.

15

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día, reduce el tamaño de los tumores de estirpe glial del sistema nervioso en mamíferos, se implantaron células tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

20

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de estirpe melánica (melanoma humano; referencia MEL-HO; suministradas por DSMZ) en 200 μ l de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue

25

medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con 200µl de placebo (grupo control) y los ocho grupos restantes con dosis de 10 (grupo 1), 20 (grupo 2), 30 (grupo 3), 40 (grupo 4), 50 (grupo 5), 60 (grupo 6), 70 (grupo 7) y 80 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 28 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 5 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos ± desviación estándar) a los 7, 14, 21 y 28 días, de tratamiento, respectivamente con cada una de las dosis utilizadas.

10

Tabla 5. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

15

| Línea celular de melanoma referencia MEL-HO. | 7 días | 14 días | 21 días | 28 días |
|--|--------|---------|---------|---------|
| Control | 250±6 | 230±6 | 205±7 | 340±7 |
| Grupo 1 (10 mg/Kg/día) | 235±3 | 215±4 | 190±4 | 170±6 |
| Grupo 2 (20 mg/Kg/día) | 210±6 | 200±5 | 175±5 | 150±7 |
| Grupo 3 (30 mg/Kg/día) | 195±7 | 185±6 | 160±6 | 140±4 |
| Grupo 4 (40 mg/Kg/día) | 175±8 | 160±8 | 140±4 | 110±6 |
| Grupo 5 (50 mg/Kg/día) | 160±5 | 150±4 | 125±5 | 100±7 |
| Grupo 6 (60 mg/Kg/día) | 145±6 | 135±5 | 115±6 | 85±4 |
| Grupo 7 (70 mg/Kg/día) | 125±4 | 105±6 | 90±4 | 80±7 |
| Grupo 8 (80 mg/Kg/día) | 100±6 | 95±7 | 65±7 | 65±9 |

Ejemplo 6. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día reduce el tamaño de los tumores cancerosos de carácter embrionario (por ejemplo neuroblastoma) en mamíferos.

20

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 10 y 80 mg por kilogramo de peso y día, reduce el tamaño de los tumores de estirpe glial del sistema nervioso en mamíferos, se implantaron células

25

tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de carácter embrionario (neuroblastoma humano; referencia KELLY; suministradas por DSMZ) en 200 μ l de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con 200 μ l de placebo (grupo control) y los ocho grupos restantes con dosis de 10 (grupo 1), 20 (grupo 2), 30 (grupo 3), 40 (grupo 4), 50 (grupo 5), 60 (grupo 6), 70 (grupo 7) y 80 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 28 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 6 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7, 14, 21 y 28 días, de tratamiento, respectivamente con cada una de las dosis utilizadas.

Tabla 6. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

| Línea celular de neuroblastoma referencia KELLY. | 7 días | 14 días | 21 días | 28 días |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Control | 195 \pm 5 | 170 \pm 5 | 155 \pm 6 | 135 \pm 6 |
| Grupo 1 (10 mg/Kg/día) | 180 \pm 4 | 165 \pm 6 | 140 \pm 5 | 120 \pm 2 |
| Grupo 2 (20 mg/Kg/día) | 175 \pm 7 | 155 \pm 7 | 130 \pm 4 | 105 \pm 4 |
| Grupo 3 (30 mg/Kg/día) | 160 \pm 3 | 145 \pm 3 | 115 \pm 3 | 90 \pm 6 |
| Grupo 4 (40 mg/Kg/día) | 155 \pm 6 | 130 \pm 6 | 105 \pm 7 | 75 \pm 8 |
| Grupo 5 (50 mg/Kg/día) | 140 \pm 4 | 110 \pm 5 | 95 \pm 7 | 60 \pm 5 |
| Grupo 6 (60 mg/Kg/día) | 130 \pm 5 | 115 \pm 7 | 85 \pm 3 | 55 \pm 9 |
| Grupo 7 (70 mg/Kg/día) | 120 \pm 6 | 95 \pm 8 | 65 \pm 6 | 40 \pm 5 |
| Grupo 8 (80 mg/Kg/día) | 105 \pm 7 | 85 \pm 6 | 45 \pm 5 | 25 \pm 6 |

Ejemplo 7. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otro fármaco antitumoral reduce el tamaño de los tumores cancerosos de estirpe epitelial (carcinomas) en mamíferos.

5

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otros antitumorales reduce el tamaño de los tumores de estirpe epitelial (carcinomas) en mamíferos, se implantaron células tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con quimioterápicos sólo y en combinación con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de estirpe epitelial (carcinoma de pulmón humano; referencia HCC-44; suministradas por DSMZ) en 200 μ l de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con Cisplatino a 8mg por kilogramo de peso una simple dosis los días 1 y 7 del experimento (grupo control) y los ocho grupos restantes con el mismo tratamiento que el grupo control y dosis de 1 (grupo 1), 3 (grupo 2), 5 (grupo 3), 6 (grupo 4), 7 (grupo 5), 8 (grupo 6), 9 (grupo 7) y 10 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día, del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 14 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 7 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7 y 14 días de tratamiento, con cada una de las dosis utilizadas.

Tabla 7. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

| Línea celular de carcinoma de pulmón humano referencia HCC-44. | 7 días | 14 días |
|---|---------------|----------------|
| Control. Cisplatino sólo. | 105±4 | 70±7 |
| Grupo 1. Cisplatino + Aprepitant 1 mg/Kg/día | 85±6 | 55±6 |
| Grupo 2. Cisplatino + Aprepitant 3 mg/Kg/día | 70±7 | 45±7 |
| Grupo 3. Cisplatino + Aprepitant 5 mg/Kg/día | 60±8 | 30±4 |
| Grupo 4. Cisplatino + Aprepitant 6 mg/Kg/día | 55±4 | 25±6 |
| Grupo 5. Cisplatino + Aprepitant 7 mg/Kg/día | 40±3 | 10±3 |
| Grupo 6. Cisplatino + Aprepitant 8 mg/Kg/día | 35±7 | 5±2 |
| Grupo 7. Cisplatino + Aprepitant 9 mg/Kg/día | 20±6 | 0±0 |
| Grupo 8. Cisplatino + Aprepitant 10 mg/Kg/día | 10±8 | 0±0 |

5

Ejemplo 8. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otro fármaco antitumoral reduce el tamaño de los tumores cancerosos de estirpe glial del sistema nervioso (gliomas) en mamíferos.

10

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otros antitumorales reduce el tamaño de los tumores de estirpe glial (gliomas) del sistema nervioso en mamíferos, se implantaron células tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con quimioterápicos sólo y en combinación con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

15

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de estirpe glial del sistema nervioso (glioma humano; referencia GAMG; suministradas por DSMZ) en 200 µl de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con dos simples dosis de Cisplatino, de 8mg por kilogramo de peso, los días 1 y 7 del experimento (grupo control).

25

Los ocho grupos restantes fueron tratados con el mismo tratamiento que el grupo control y dosis de 1 (grupo 1), 3 (grupo 2), 5 (grupo 3), 6 (grupo 4), 7 (grupo 5), 8 (grupo 6), 9 (grupo 7) y 10 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día, del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 14 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 8 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7 y 14 días de tratamiento, con cada una de las dosis utilizadas.

Tabla 8. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

| Línea celular de glioma humano referencia GAMG | 7 días | 14 días |
|---|---------------|----------------|
| Control. Cisplatino sólo. | 115 \pm 7 | 85 \pm 6 |
| Grupo 1. Cisplatino + Aprepitant 1 mg/Kg/día | 90 \pm 5 | 60 \pm 5 |
| Grupo 2. Cisplatino + Aprepitant 3 mg/Kg/día | 80 \pm 3 | 55 \pm 4 |
| Grupo 3. Cisplatino + Aprepitant 5 mg/Kg/día | 65 \pm 2 | 40 \pm 4 |
| Grupo 4. Cisplatino + Aprepitant 6 mg/Kg/día | 60 \pm 2 | 35 \pm 3 |
| Grupo 5. Cisplatino + Aprepitant 7 mg/Kg/día | 45 \pm 4 | 20 \pm 4 |
| Grupo 6. Cisplatino + Aprepitant 8 mg/Kg/día | 30 \pm 3 | 15 \pm 3 |
| Grupo 7. Cisplatino + Aprepitant 9 mg/Kg/día | 25 \pm 2 | 10 \pm 2 |
| Grupo 8. Cisplatino + Aprepitant 10 mg/Kg/día | 5 \pm 1 | 0 \pm 0 |

Ejemplo 9. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otro fármaco antitumoral reduce el tamaño de los tumores cancerosos de estirpe mesenquimal (sarcomas) en mamíferos.

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otros antitumorales reduce el tamaño de los tumores de estirpe mesenquimal (sarcomas) en mamíferos, se implantaron células tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con quimioterápicos sólo y en combinación con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de estirpe mesenquimal (Fibrosarcoma humano; referencia HT-1080; suministradas por DSMZ) en 200 μ l de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con dos simples dosis de Cisplatino, de 8mg por kilogramo de peso, los días 1 y 7 del experimento (grupo control). Los ocho grupos restantes fueron tratados con el mismo tratamiento que el grupo control y dosis de 1 (grupo 1), 3 (grupo 2), 5 (grupo 3), 6 (grupo 4), 7 (grupo 5), 8 (grupo 6), 9 (grupo 7) y 10 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día, del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 14 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 9 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7 y 14 días de tratamiento, con cada una de las dosis utilizadas.

Tabla 9. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

| Línea celular de fibrosarcoma humano referencia HT-1080. | 7 días | 14 días |
|--|------------|------------|
| Control. Cisplatino sólo. | 95 \pm 5 | 65 \pm 5 |
| Grupo 1. Cisplatino + Aprepitant 1 mg/Kg/día | 80 \pm 6 | 50 \pm 7 |
| Grupo 2. Cisplatino + Aprepitant 3 mg/Kg/día | 70 \pm 7 | 35 \pm 4 |
| Grupo 3. Cisplatino + Aprepitant 5 mg/Kg/día | 55 \pm 3 | 20 \pm 3 |
| Grupo 4. Cisplatino + Aprepitant 6 mg/Kg/día | 40 \pm 3 | 15 \pm 4 |
| Grupo 5. Cisplatino + Aprepitant 7 mg/Kg/día | 25 \pm 5 | 10 \pm 5 |
| Grupo 6. Cisplatino + Aprepitant 8 mg/Kg/día | 15 \pm 2 | 5 \pm 2 |
| Grupo 7. Cisplatino + Aprepitant 9 mg/Kg/día | 10 \pm 1 | 0 \pm 0 |
| Grupo 8. Cisplatino + Aprepitant 10 mg/Kg/día | 5 \pm 2 | 0 \pm 0 |

Ejemplo 10. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otro fármaco antitumoral reduce el tamaño de los tumores cancerosos de estirpe melánica (melanomas) en mamíferos.

5

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otros antitumorales reduce el tamaño de los tumores de estirpe melánica (melanomas) en mamíferos, se implantaron células tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con quimioterápicos sólo y en combinación con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de estirpe melánica (melanoma humano; referencia MEL-HO; suministradas por DSMZ) en 200 μ l de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con dos simples dosis de Cisplatino, de 8mg por kilogramo de peso, los días 1 y 7 del experimento (grupo control). Los ocho grupos restantes fueron tratados con el mismo tratamiento que el grupo control y dosis de 1 (grupo 1), 3 (grupo 2), 5 (grupo 3), 6 (grupo 4), 7 (grupo 5), 8 (grupo 6), 9 (grupo 7) y 10 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día, del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 14 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 10 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7 y 14 días de tratamiento, con cada una de las dosis utilizadas.

Tabla 10. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

| Línea celular de melanoma humano referencia MEL-HO. | 7 días | 14 días |
|---|--------|---------|
| Control. Cisplatino sólo. | 105±6 | 75±6 |
| Grupo 1. Cisplatino + Aprepitant 1 mg/Kg/día | 100±7 | 55±8 |
| Grupo 2. Cisplatino + Aprepitant 3 mg/Kg/día | 95±8 | 30±8 |
| Grupo 3. Cisplatino + Aprepitant 5 mg/Kg/día | 80±5 | 25±6 |
| Grupo 4. Cisplatino + Aprepitant 6 mg/Kg/día | 65±4 | 10±7 |
| Grupo 5. Cisplatino + Aprepitant 7 mg/Kg/día | 55±3 | 15±4 |
| Grupo 6. Cisplatino + Aprepitant 8 mg/Kg/día | 40±3 | 5±3 |
| Grupo 7. Cisplatino + Aprepitant 9 mg/Kg/día | 30±2 | 0±0 |
| Grupo 8. Cisplatino + Aprepitant 10 mg/Kg/día | 25±2 | 0±0 |

5

Ejemplo 11. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otro fármaco antitumoral reduce el tamaño de los tumores cancerosos de carácter embrionario (por ejemplo neuroblastoma) en mamíferos.

10

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otros antitumorales reduce el tamaño de los tumores de carácter embrionario (por ejemplo neuroblastoma) en mamíferos, se implantaron células tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con quimioterápicos sólo y en combinación con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

15

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de carácter embrionario (neuroblastoma humano; referencia KELLY; suministradas por DSMZ) en 200 µl de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con dos simples dosis de Cisplatino, de 8 mg por kilogramo de peso, los días 1 y 7 del experimento (grupo control).

25

Los ocho grupos restantes fueron tratados con el mismo tratamiento que el grupo control y dosis de 1 (grupo 1), 3 (grupo 2), 5 (grupo 3), 6 (grupo 4), 7 (grupo 5), 8 (grupo 6), 9 (grupo 7) y 10 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día, del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 14 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 11 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7 y 14 días de tratamiento, con cada una de las dosis utilizadas.

Tabla 11. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

| Línea celular de neuroblastoma humano referencia KELLY. | 7 días | 14 días |
|--|---------------|----------------|
| Control. Cisplatino sólo. | 95 \pm 8 | 60 \pm 8 |
| Grupo 1. Cisplatino + Aprepitant 1 mg/Kg/día | 80 \pm 8 | 50 \pm 6 |
| Grupo 2. Cisplatino + Aprepitant 3 mg/Kg/día | 75 \pm 5 | 35 \pm 4 |
| Grupo 3. Cisplatino + Aprepitant 5 mg/Kg/día | 60 \pm 6 | 20 \pm 4 |
| Grupo 4. Cisplatino + Aprepitant 6 mg/Kg/día | 55 \pm 6 | 10 \pm 3 |
| Grupo 5. Cisplatino + Aprepitant 7 mg/Kg/día | 40 \pm 7 | 5 \pm 2 |
| Grupo 6. Cisplatino + Aprepitant 8 mg/Kg/día | 25 \pm 4 | 0 \pm 0 |
| Grupo 7. Cisplatino + Aprepitant 9 mg/Kg/día | 10 \pm 3 | 0 \pm 0 |
| Grupo 8. Cisplatino + Aprepitant 10 mg/Kg/día | 5 \pm 1 | 0 \pm 0 |

Ejemplo 12. El tratamiento con antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otro fármaco antitumoral reduce el tamaño de los tumores cancerosos de estirpe hemato-linfoide (leucemias y linfomas) en mamíferos.

Para comprobar que la administración de los antagonistas no de los receptores NK1 a dosis comprendidas entre 1 y 10 mg por kilogramo de peso y día, en combinación con otros antitumorales reduce el tamaño de los tumores de estirpe hemato-linfoide (leucemias y linfomas) en mamíferos, se implantaron células tumorales en ratones y posteriormente fueron tratados con quimioterápicos sólo y en combinación con antagonistas no peptídicos del receptor NK1.

Se utilizaron ratones hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad, en las mismas condiciones que se han explicado en el ejemplo 1. Se les inyectaron 2×10^7 células tumorales, correspondientes a tumor de estirpe hemato-linfoide (Linfoma humano; referencia BC-1; suministradas por DSMZ) en 200 μ l de PBS via subcutánea. El tamaño tumoral fue medido y los ratones fueron evaluados para su estado de salud y peso diariamente. Los ratones fueron randomizados en nueve grupos cuando los tumores alcanzaron un volumen de 75 mm³. Uno de los grupos fue tratado con dos simples dosis de Cisplatino, de 8mg por kilogramo de peso, los días 1 y 7 del experimento (grupo control). Los ocho grupos restantes fueron tratados con el mismo tratamiento que el grupo control y dosis de 1 (grupo 1), 3 (grupo 2), 5 (grupo 3), 6 (grupo 4), 7 (grupo 5), 8 (grupo 6), 9 (grupo 7) y 10 (grupo 8) mg por kilogramo de peso y día, del antagonista del receptor NK1 Aprepitant. Fueron tratados 3 animales por cada grupo, durante 14 días. Todos los ratones fueron sacrificados al final del experimento. En la tabla 12 se expone el tamaño del tumor (en milímetros cúbicos \pm desviación estándar) a los 7 y 14 días de tratamiento, con cada una de las dosis utilizadas.

15

Tabla 12. Tamaño del tumor de los tumores provocados en un modelo *in vivo* de ratón. Volumen medio del tumor en los ratones control (no tratados) o en los ratones después del tratamiento con el antagonista no peptídico del receptor NK1 (Aprepitant).

20

| Línea celular de linfoma humano referencia BC-1. | 7 días | 14 días |
|--|------------|------------|
| Control. Cisplatino sólo. | 85 \pm 6 | 50 \pm 3 |
| Grupo 1. Cisplatino + Aprepitant 1 mg/Kg/día | 75 \pm 3 | 40 \pm 2 |
| Grupo 2. Cisplatino + Aprepitant 3 mg/Kg/día | 60 \pm 5 | 25 \pm 2 |
| Grupo 3. Cisplatino + Aprepitant 5 mg/Kg/día | 50 \pm 5 | 10 \pm 4 |
| Grupo 4. Cisplatino + Aprepitant 6 mg/Kg/día | 45 \pm 3 | 5 \pm 2 |
| Grupo 5. Cisplatino + Aprepitant 7 mg/Kg/día | 30 \pm 2 | 0 \pm 0 |
| Grupo 6. Cisplatino + Aprepitant 8 mg/Kg/día | 20 \pm 1 | 0 \pm 0 |
| Grupo 7. Cisplatino + Aprepitant 9 mg/Kg/día | 15 \pm 1 | 0 \pm 0 |
| Grupo 8. Cisplatino + Aprepitant 10 mg/Kg/día | 10 \pm 2 | 0 \pm 0 |

25

Ejemplo 13. Los antagonistas del receptor NK1 a dosis bajas (rango de concentración nanomolar) aumentan la proliferación de las células tumorales.

Se utilizaron cultivos celulares de varias líneas celulares tumorales comerciales que se recogen en la tabla 13.

Tabla 13. Líneas celulares tumorales humanas utilizadas para demostrar la acción del antagonista del receptor NK1 a dosis del rango nanomolar.

| Tipo de tumor | Línea celular | Empresa comercializadora |
|--------------------------------|---------------|--------------------------|
| Adenocarcinoma de colon humano | SW-403 | DSMZ |
| Carcinoma de mama humano | MT-3 | DSMZ |
| Carcinoma de pulmón humano | A-427 | DSMZ |
| Fibrosarcoma humano | HT-1080 | DSMZ |
| Glioma humano | GAMG | DSMZ |
| Linfoma B humano | BC-1 | DSMZ |
| Melanoma humano | MEL HO | DSMZ |
| Neuroblastoma humano | KELLY | DSMZ |

10

DSMZ: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen.

La proliferación celular se evaluó mediante el compuesto tetrazolium 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil) 2-(4-sulfopenil)-2H-tetrazolium (MTS) de acuerdo con las instrucciones proporcionadas por el fabricante (Kit "CellTiter 96 Aqueous One-Solution Cell Proliferation Assay" Promega, USA; protocolo completo de uso disponible en url: <http://www.promega.com/resources/protocols/technical-bulletins/0/celltiter-96-aqueous-one-solution-cell-proliferation-assay-system-protocol/>).

20

El número de células se cuantificó usando un contador Coulter. En las placas de cultivos celulares tumorales se incluyó una muestra blanco (sin células) y una muestra control (que contenía 10^4 cel/ml). Las placas de cultivo se cultivaron en presencia de concentraciones crecientes de los antagonistas no peptídicos de los receptores NK1. Para obtener la tinción en los ensayos de proliferación, se añadieron 20 μ l de MTS a cada uno de los pocillos de las placas de cultivo celular 90 minutos antes de realizar la lectura de las muestras en un espectrofotómetro multiescanner (TECAN Spectra classic, Barcelona, España) a 492 nm

25

(longitud de onda del ensayo) y 690 nm (longitud de onda de referencia). Las diferentes dosis se ensayaron por duplicado y cada experimento se realizó por triplicado.

5 Se utilizó el antagonista Aprepitant a concentraciones 1 nanomolar –nM-, 5 nanomolar –nM- y 7 nanomolar–nM-.

10 En todos los casos se aprecia un aumento de la proliferación en la línea de células tumorales que resultó ser tiempo dependiente: mayor inhibición en relación con un tiempo de exposición al antagonista más prolongado. Como control de proliferación las células se cultivaron en ausencia del antagonista mencionado. Esto se expresa en las figuras 1 a 10.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1 en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un mamífero a dosis comprendidas entre 5 y 120 mg/kg de peso al día.
2. El uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1 según la reivindicación anterior, donde la dosis está comprendida entre 8 y 100 mg/kg de peso al día.
- 10 3. El uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1 según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde la dosis está comprendida entre 10 y 80 mg/kg de peso al día.
- 15 4. El uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1 según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el antagonista no peptídico del receptor NK1 se selecciona de la lista que consiste en: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant, Lanepitant, LY-686017, L-733,060, L-732,138, L-703,606, WIN 62,577, CP-122721, , TAK-637, y R673, CP-100263, WIN 51708, CP-96345, L-760735, CP-122721, L-758298, L-741671, L-742694, CP-99994, T-2328, o cualquiera de sus combinaciones.
- 20 5. El uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1 según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el antagonista no peptídico del receptor NK1 se selecciona de la lista que consiste en: Aprepitant, Vestipitant, Casopitant, Vofopitant, Ezlopitant y Lanepitant, o cualquiera de sus combinaciones.
- 25 6. El uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1 según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el antagonista no peptídico del receptor NK1 es el Aprepitant.
- 30 7. Uso de una composición que comprende un antagonista no peptídico del receptor NK1 a dosis comprendidas entre 5 y 120 mg/kg de peso al día en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer.
- 35 8. El uso de una composición según la reivindicación anterior, donde la composición además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.

9. El uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 7-8, donde la composición además comprende al menos otro principio activo B.
- 5 10. El uso de una composición según la reivindicación anterior, donde el principio activo B se selecciona de la lista que consiste en: Clorambucil, Melfalán, Aldesleukina, 6-Mercaptopurina, 5-Fluoruracilo, Ara-c, Bexaroteno, Bleomicina, Capecitabina, Carboplatino, Cisplatino, Docetaxel, Doxorubicina, Epirubicina, Fludarabina, Irinotecan Metotrexato, Mitoxantrona Oxaliplatino, Paclitaxel, Rituximab, Vinblastina, Etopósido, Tenipósido, Vincristina, Vinorelbina, Imatinib, Erlotinib, Cetuximab Trastuzumab, o
10 cualquiera de sus combinaciones.
11. El uso de una preparación combinada que comprende:
- a) un principio activo A, que es un antagonista no peptídico del receptor NK1 a dosis comprendidas entre 5 y 120 mg/kg de peso al día
- 15 b) un principio activo B se selecciona de la lista que consiste en: Clorambucil, Melfalán, Aldesleukina, 6-Mercaptopurina, 5-Fluoruracilo, Ara-c, Bexaroteno, Bleomicina, Capecitabina, Carboplatino, Cisplatino, Docetaxel, Doxorubicina, Epirubicina, Fludarabina, Irinotecan Metotrexato, Mitoxantrona Oxaliplatino, Paclitaxel, Rituximab, Vinblastina, Etopósido, Tenipósido, Vincristina,
20 Vinorelbina, Imatinib, Erlotinib, Cetuximab Trastuzumab, o cualquiera de sus combinaciones,
- en la elaboración de un medicamento para el tratamiento simultáneo, combinado o secuencial del cáncer en un mamífero.
- 25 12. El uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1 según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el cáncer se selecciona de la lista que consiste en carcinoma gástrico, carcinoma de colon, carcinoma de páncreas, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de endometrio, coriocarcinoma, carcinoma de cérvix uterino, carcinoma de pulmón, carcinoma de tiroides, carcinoma de vejiga, carcinoma de
30 próstata, tumores gliales del sistema nervioso central, sarcomas, melanomas, cánceres embrionarios, cánceres hematológicos, o cualquiera de sus combinaciones.
13. El uso de una composición que comprende un antagonista no peptídico del receptor NK1 en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer según
35 cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, donde el cáncer se selecciona de la lista que consiste en carcinoma gástrico, carcinoma de colon, carcinoma de páncreas, carcinoma

de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de endometrio, coriocarcinoma, carcinoma de cérvix uterino, carcinoma de pulmón, carcinoma de tiroides, carcinoma de vejiga, carcinoma de próstata, tumores gliales del sistema nervioso central, sarcomas, melanomas, cánceres embrionarios, cánceres hematológicos, o cualquiera de sus combinaciones.

5

14. El uso de una preparación combinada en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer según la reivindicación 11, donde el cáncer se selecciona de la lista que consiste en carcinoma gástrico, carcinoma de colon, carcinoma de páncreas, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de endometrio, coriocarcinoma, carcinoma de cérvix uterino, carcinoma de pulmón, carcinoma de tiroides, carcinoma de vejiga, carcinoma de próstata, tumores gliales del sistema nervioso central, sarcomas, melanomas, cánceres embrionarios, cánceres hematológicos, o cualquiera de sus combinaciones.

10

15

15. El uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y 12, donde el cáncer cursa con alteración del ambiente peritumoral.

20

16. El uso de una composición que comprende un antagonista no peptídico del receptor NK1, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10 y 13, donde el cáncer cursa con alteración del ambiente peritumoral.

25

17. El uso de una preparación combinada en la elaboración de un medicamento según cualquiera de las reivindicaciones 11 y 14, donde el cáncer cursa con alteración del ambiente peritumoral.

30

18. El uso de un antagonista no peptídico del receptor NK1, según la reivindicación 15, donde el cáncer que cursa con alteración peritumoral muestra un aumento de la síntesis de los marcadores seleccionados de la lista que consiste en: NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o combinaciones de los mismos.

35

19. El uso de una composición que comprende un antagonista no peptídico del receptor NK1, según la reivindicación 16, donde el cáncer que cursa con alteración peritumoral muestra un aumento de la síntesis de los marcadores seleccionados de la lista que

consiste en: NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o combinaciones de los mismos.

- 5 20. El uso de una preparación combinada en la elaboración de un medicamento según la reivindicación 17, donde el cáncer que cursa con alteración peritumoral muestra un aumento de la síntesis de los marcadores seleccionados de la lista que consiste en: NF-kB, EGF, VEGF, TNF- α , TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, SPARC, MMP-3; MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-13, MMP-14 y/o combinaciones de los mismos.

10

Figura 1.

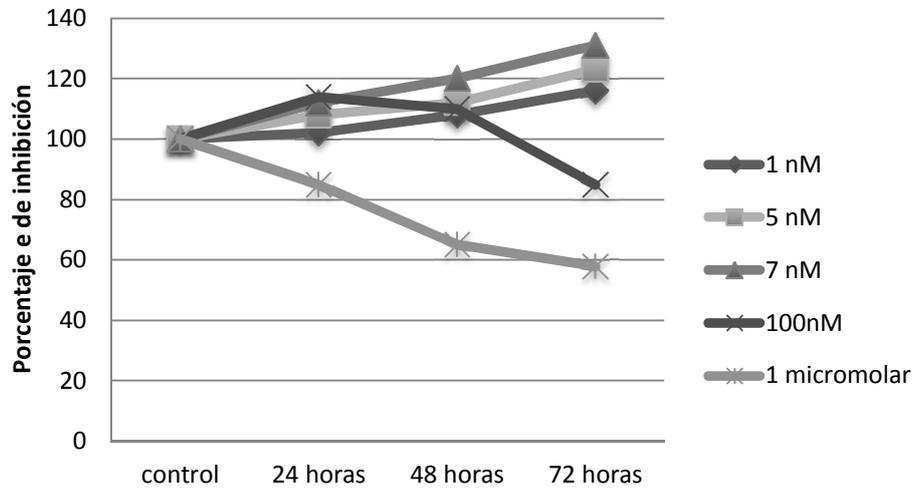


Figura 2.

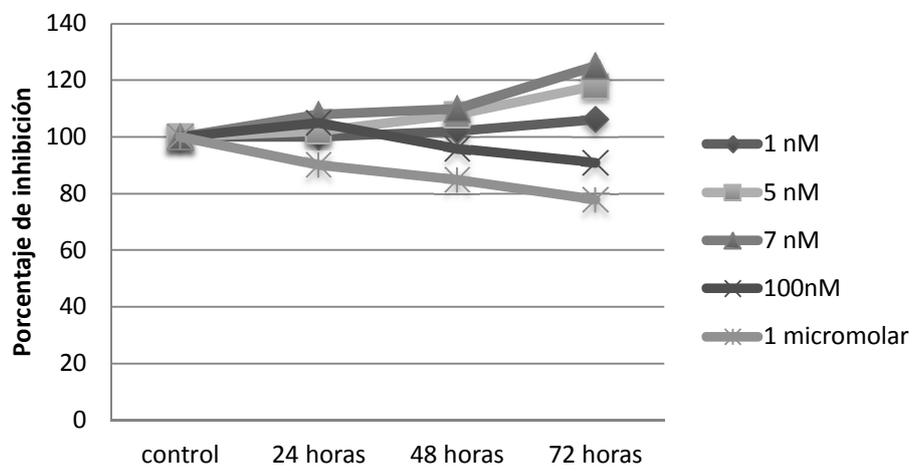


Figura 3.

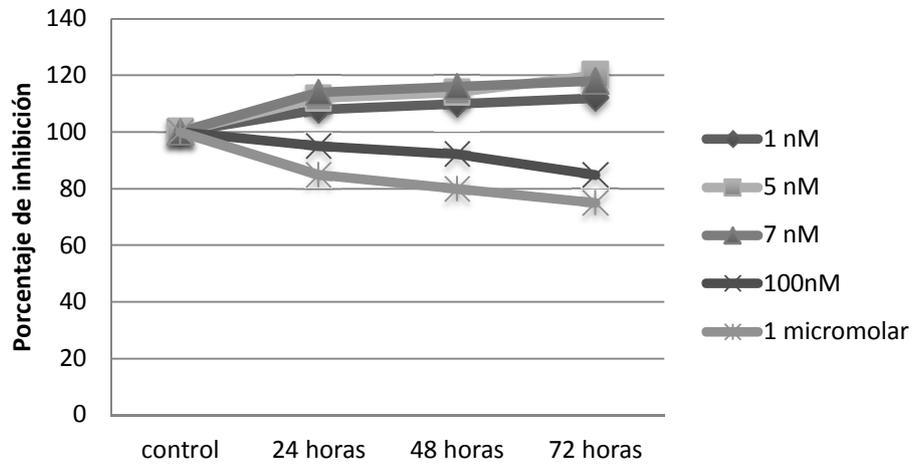


Figura 4.

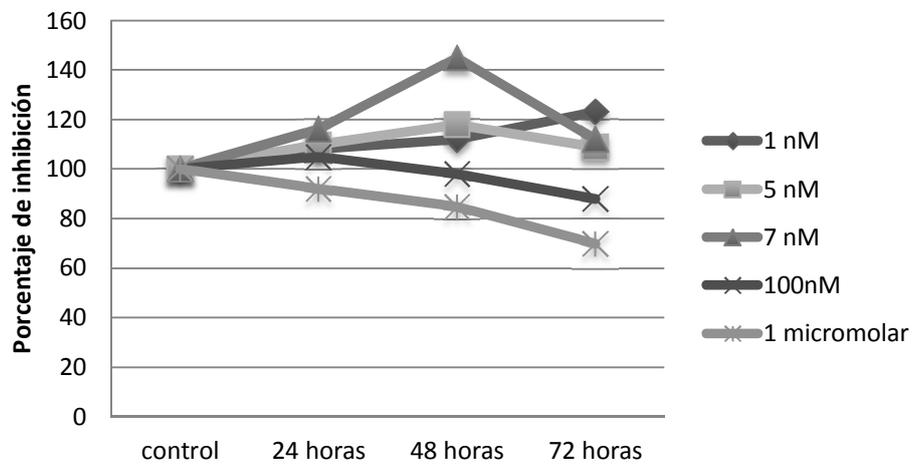


Figura 5.

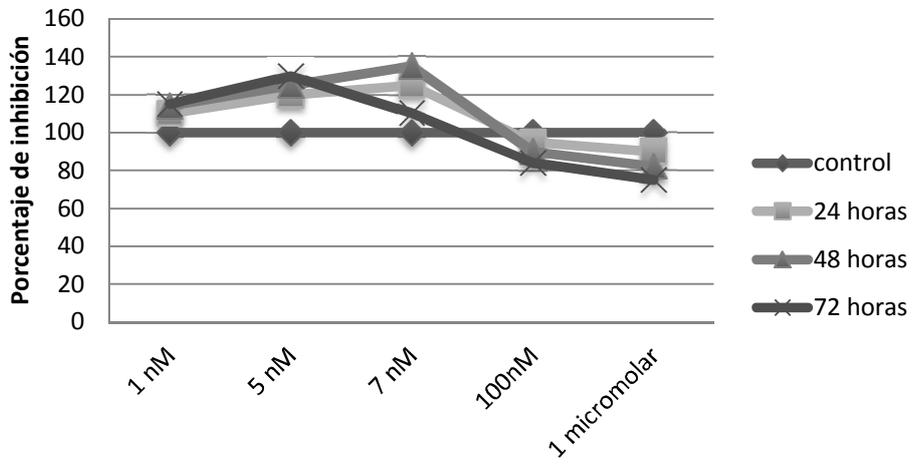


Figura 6.

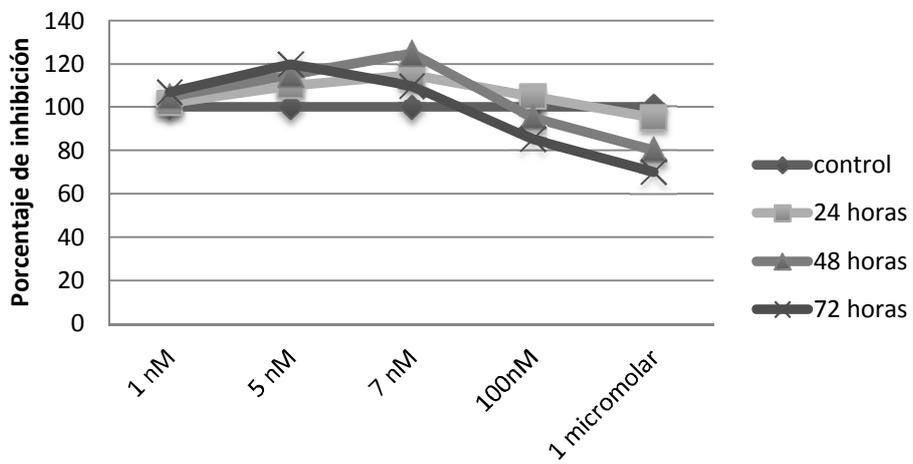


Figura 7.

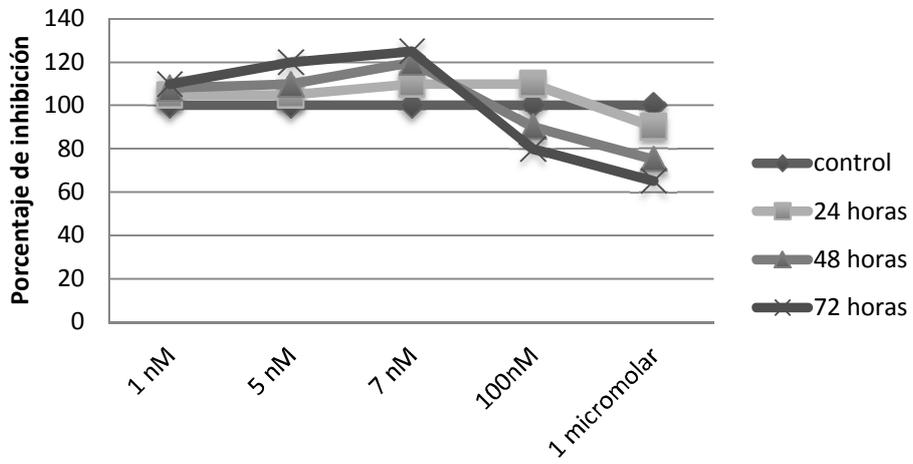


Figura 8.

