

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 573 295**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/395** (2006.01)

**A61K 31/5377** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.11.2009 E 09756754 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 2370103**

54 Título: **Combinaciones farmacéuticas que comprenden un inhibidor de Hsp90 derivado de isoxazol y el inhibidor de HER2 trastuzumab**

30 Prioridad:

**28.11.2008 EP 08170255**

**28.11.2008 EP 08170261**

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

**07.06.2016**

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)**

**Lichtstrasse 35**

**4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**GARCIA-ECHEVERRIA, CARLOS y**

**JENSEN, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 573 295 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Combinaciones farmacéuticas que comprenden un inhibidor de HSP90 derivado de isoxazol y el inhibidor de HER2 trastuzumab.

5 Esta solicitud reivindica prioridad de las Solicitudes Europeas Números 08170255.7, presentada el 28 de Noviembre de 2008, y 08170261.5, presentada el 28 de Noviembre de 2008.

Campo de la invención

La presente divulgación está dirigida a una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de Hsp90 y uno o más agentes farmacéuticamente activos, por ejemplo un inhibidor de HER2, y los usos de tal composición para el tratamiento de enfermedades, que incluyen enfermedades proliferativas.

10 Antecedentes relacionados de la técnica

A pesar de numerosas opciones de tratamiento para pacientes con enfermedades proliferativas, sigue existiendo una necesidad de agentes efectivos y antiproliferativos seguros y una necesidad de su uso en terapia de combinación.

15 Se reconoce la proteína de choque térmico 90 (Hsp90) como un objetivo anticáncer. La Hsp90 es una proteína esencial, ubicua, altamente abundante (1-2% del total de proteína celular), que funciona como una chaperona molecular para asegurar la estabilidad conformacional, forma y función de las proteínas cliente.

20 Entre las proteínas de tensión, la Hsp90 es única porque no es requerida para la biogénesis de la mayoría de polipéptidos (Nathan et al., 1997). Sus objetivos celulares, también llamados proteínas cliente, son transductores de señal conformacionalmente lábiles que juegan un papel crítico en el control del crecimiento, supervivencia de la célula y desarrollo de tejido (Pratt y Toft, 2003). La inhibición de su actividad intrínseca de ATPasa de Hsp90 interrumpe la interacción de proteína cliente-Hsp90 que da como resultado su degradación a través de la ruta ubiquitina proteasoma. Un subconjunto de proteínas cliente Hsp90, tales como Raf, AKT, fosfo-AKT y CDK4 son moléculas de señalización oncogénica involucradas de manera crítica en el crecimiento, diferenciación y apoptosis, celulares, procesos que son importantes en células cancerosas. Se cree que la degradación de una o múltiples oncoproteínas produce los efectos antitumorales observados con inhibidores de Hsp90.

25 La familia Hsp90 de chaperonas está compuesta por cuatro miembros: Hsp90 $\alpha$  y Hsp90 $\beta$  ambos localizados en el citosol, GRP94 en el retículo endoplásmico, y TRAP1 en la mitocondria (Csermely et al., 1998). La Hsp90 es la chaperona celular más abundante, que constituye aproximadamente 1%-2% de la proteína total (Jakob y Buchner, 1994).

30 Las chaperonas Hsp90, que poseen un sitio de unión de ATP conservado en su dominio terminal en N (Chene, 2002) pertenecen a una pequeña subfamilia de ATPasa conocida como la subfamilia de la Girasa de ADN, Hsp90, Histidina Quinasa y MutL (GHKL) (Dutta y Inouye, 2000). La actividad de chaperona (plegado) de Hsp90 depende de su actividad de ATPasa que es débil para la enzima aislada. Sin embargo, ha sido demostrado que la actividad de ATPasa de Hsp90 es mejorada por su asociación con proteínas conocidas como cochaperonas (Kamal et al., 2003).  
35 Por lo tanto, in vivo, las proteínas Hsp90 trabajan como subunidades de complejos grandes de proteína dinámica. La Hsp90 es esencial para la supervivencia de la célula eucariótica y es sobreexpresada en muchos tumores.

Breve resumen de la invención

40 Se ha encontrado que una combinación que comprende al menos un compuesto inhibidor de Hsp90 y al menos un inhibidor de HER2, por ejemplo como se define abajo, tiene un efecto benéfico en desórdenes proliferativos, que incluyen sin limitación, por ejemplo, tumores sólidos, por ejemplo cáncer de mama.

La presente invención provee una combinación farmacéutica que comprende (a) un inhibidor de HSP90 y (b) un inhibidor de HER2, en la que el inhibidor de HSP90 es ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y el inhibidor de HER2 es trastuzumab.

45 También se provee la combinación anterior como un kit.

También se provee una combinación como se describe anteriormente en la forma de una composición farmacéutica.

50 La presente invención provee una combinación que comprende al menos un compuesto inhibidor de HSP90 y al menos un inhibidor de HER2 para uso en un método de tratamiento de una enfermedad proliferativa que comprende administración a un paciente en necesidad del mismo, de una cantidad efectiva de dicho inhibidor de HSP90 que es ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida, o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo, como un primer agente farmacéutico, y dicho inhibidor de HER2 que es trastuzumab como un segundo agente farmacéutico.

También se provee una combinación para uso como se describe anteriormente, en la que el trastorno proliferativo es cáncer de mama.

La presente invención también provee la combinación anterior para uso en el que cada agente es administrado simultáneamente o secuencialmente y en cualquier orden.

- 5 La presente invención también provee la combinación anterior para uso en la que cada agente es administrado de forma separada o como una combinación fija.

Breve descripción de los dibujos

- 10 La Fig. 1 muestra el efecto del compuesto I (ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4- ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida también conocido como AUY922) con trastuzumab en el modelo de xenoinjerto de cáncer de mama BT-474.

Descripción detallada de la invención

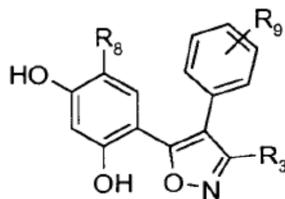
- 15 Tal como se usa aquí, el término "sales aceptables farmacéuticamente " se refiere a sales no tóxicas ácidas o de metales alcalinotérreos de compuestos de la invención. Estas sales pueden ser preparadas in situ durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos, o haciendo reaccionar por separado las funciones básicas o ácidas con un ácido o base orgánico o inorgánico, respectivamente, adecuados. Sales representativas incluyen, pero no están limitadas a, las siguientes: acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanosulfonato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, y undecanoato. También, los grupos básicos que contienen nitrógeno se pueden transformar en cuaternarios con agentes tales como haluros de alquilo, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo, y butilo; dialquil sulfatos como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo, y diamilo, haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo, y estearilo, haluros de aralquilo como bromuros bencilo y fenetilo, y otros. Se obtienen de esta manera productos solubles o que se pueden dispersar en agua o aceite.

- 20 Ejemplos de ácidos que pueden ser empleados para formar sales de adición ácida aceptables farmacéuticamente incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico y ácidos orgánicos tales como ácido oxálico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido succínico y ácido cítrico. Se pueden preparar sales de adición básica in situ durante el aislamiento y purificación finales del compuesto, o de manera separada mediante la reacción de fundades estructurales de ácido carboxílico con una base adecuada como hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal aceptable farmacéuticamente o con amoniaco, o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Las sales aceptables farmacéuticamente incluyen, pero no están limitadas a, cationes basados en metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como sales de sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, aluminio y similares, así como cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario, y amina, que incluyen, pero no están limitados a amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, y similares. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición básicas incluyen dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, y similares.

- 30 El término "profármacos farmacéuticamente aceptables" como se usa aquí se refiere a aquellos profármacos de los compuestos de la presente invención que son, dentro del alcance del juicio médicos sensato, adecuados para uso en contacto con los tejidos de humanos y animales inferiores sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica indebidas, y similares, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, y eficaces para su uso pretendido, así como las formas zwiteriónicas, cuando sea posible, de los compuestos de la invención. El término "profármaco" se refiere a los compuestos que son transformados rápidamente in vivo para producir el compuesto progenitor de la fórmula anterior, por ejemplo por hidrólisis en la sangre, tal como un profármaco de éster. Una discusión detallada se proporciona en Higuchi, T., y V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," A.C.S. Symposium Series 40 14, y en "Bioreversible Carriers in Drug Design," en Edward B. Roche (ed.), American Pharmaceutical Association, Pergamon Press, 1987, ambos de los cuales se incorporan aquí como referencia.

- 40 En realizaciones, una composición farmacéutica de acuerdo con la invención comprende un primer componente farmacéutico y un segundo componente farmacéutico en un vehículo aceptable farmacéuticamente.

La presente divulgación describe el uso de compuestos que consisten en los de la fórmula (E), y regioisómeros de la misma, y sus sales, solvatos e hidratos, y profármacos de los mismos:



(E)

en la que  $R_3$  representa un grupo carboxamida (tal como etilaminocarbonilo  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})-$ , o isopropilaminocarbonilo  $(\text{CH}_3)_2\text{CHNHC}(=\text{O})-$ );  $R_9$  representa  $\text{CH}_2\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$  o  $-\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$  en los que el grupo amino sustituido  $-\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$  es un grupo que da solubilidad, (tales como morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo, pirrolidinilo, etilamino, isopropilamino, dietilamino, ciclohexilamino, ciclopentilamino, metoxietilamino, piperidin-4-il, N-acetilpiperazinilo, N-metilpiperazinilo, metilsulfonilamino, tiomorfolinilo, tiomorfolinilo-dióxido, 4-hidroxiethylpiperidinilo, y 4-hidroxipiperidinilo); y  $R_8$  representa un sustituyente opcional, especialmente un pequeño grupo lipófilico (tal como etilo, isopropilo, bromo, o cloro).

En tales compuestos de la invención de 2,4-dihidroxi fenilo, sustituidos en 5, los grupos hidroxilo pueden estar protegidos por grupos que se escinden en el cuerpo para liberar los grupos hidroxilo. Grupos de tipo profármaco conocidos de esta clase que se escinden hasta hidroxilos incluyen grupos alquilcarbonilo tales como grupos metilcarbonilo, y alquilaminocarbonilo tal como dialquilamino o isopropilamino-carbonilo.

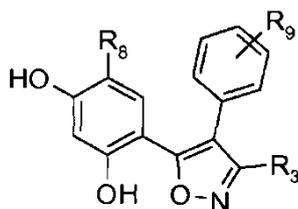
Un compuesto específico con el cual la divulgación está relacionada incluye particularmente el siguiente, y sus sales, N-óxidos, hidratos y solvatos y profármacos del mismo:

Ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida.

Los compuestos dentro del alcance de la fórmula (E) y el proceso para su manufactura son divulgados en el documento WO 04/072051 publicado el 26 de Agosto de 2004. Un compuesto preferido es ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida.

La presente divulgación se refiere a una combinación farmacéutica que comprende

a) un compuesto de la fórmula (E)



(E)

en la que  $R_3$  es seleccionado de etilaminocarbonilo  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})-$  o isopropilaminocarbonilo  $(\text{CH}_3)_2\text{CHNHC}(=\text{O})-$ ,

$R_8$  es seleccionado de etilo, isopropilo, bromo, o cloro; y

$R_9$  es seleccionado de morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo, pirrolidinilo, etilamino, isopropilamino, dietilamino, ciclohexilamino, ciclopentilamino, metoxietilamino, piperidin-4-ilo, N-acetilpiperazinilo, N-metilpiperazinilo, metilsulfonilamino, tiomorfolinilo, tiomorfolinilo-dióxido, 4-hidroxiethylpiperidinilo o 4-hidroxipiperidinilo; y

b) al menos un inhibidor de HER2 (ErbB2)

El compuesto de la fórmula (E) puede ser un inhibidor de Hsp90.

Un compuesto preferido de la fórmula (E) es ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida.

En un aspecto, la presente invención provee el uso de ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-

fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida y al menos un inhibidor de HER2 (ErbB2) para la manufactura de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad proliferativa, en la cual dicho inhibidor de HER2 es trastuzumab.

5 En un aspecto adicional, la presente invención provee ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida y al menos un inhibidor de HER2 (ErbB2) para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad proliferativa, en la que dicho inhibidor de HER2 es trastuzumab.

10 La presente divulgación se refiere además a combinaciones que tienen como objetivo, que disminuyen o inhiben la actividad de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) de tirosina quinasa (ErbB1 (EGFR1), ErbB2 (EGFR2, HER2), ErbB3 (EGFR3), ErbB4 (EGFR4) como homo o heterodímeros), tales como compuestos que tienen objetivo, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben miembros de la familia de receptores de tirosina quinasa EGF, por ejemplo, receptor EGF, ErbB1, ErbB2, ErbB3 y ErbB4 o ligandos que se unen a EGF o relacionados con EGF, y son en particular aquellos compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales genéricamente y específicamente divulgados en el documento US 5,677,171, que es incorporado aquí en el presente documento como referencia. Están comprendidos también los esteroisómeros correspondientes así como las correspondientes modificaciones cristalinas, por ejemplo solvatos y polimorfos, que son divulgados en la misma. Es más preferido el trastuzumab también comercializado bajo el nombre comercial Herceptin™. El trastuzumab, un anticuerpo monoclonal, trabaja interfiriendo con una de las vías en las cuales las células de cáncer de mama crecen y se dividen. Algunas células de cáncer de mama sobreexpresan una proteína conocida como HER2 (ErbB2) en su superficie celular. El trastuzumab bloquea los suministros de sobreexpresión de señal de crecimiento positivo HER2 al tumor al unirse él mismo a la proteína HER2 (ErbB2) y actúa como un inhibidor de HER2 (ErbB2). Esto inhibe la división y crecimiento de células tumorales. El Trastuzumab también trabaja al atraer las células autoinmunes del cuerpo para ayudar a destruir las células de cáncer. El Trastuzumab está aprobado para el tratamiento del cáncer de mama cuyos tumores sobreexpresan la proteína HER2 (ErbB2). Otro ejemplo de un inhibidor de HER2 (ErbB2) es lapatinib. Un ejemplo de un inhibidor de HER1 (ErbB1) es erlotinib.

15 En cada caso donde se dan anteriormente citas de solicitudes de patente, se divulgan también aquí las sales farmacéuticamente aceptables, los racematos, diastereoisómeros, enantiómeros, tautómeros correspondientes, así como las correspondientes modificaciones cristalinas, por ejemplo solvatos, hidratos y polimorfos de los compuestos divulgados anteriormente, cuando están presentes. Los compuestos usados como ingredientes activos en las combinaciones de la invención pueden ser preparados y administrados como se describe en los documentos citados, respectivamente. También dentro del alcance de esta invención está la combinación de más de dos ingredientes activos separados como se ha expuesto anteriormente, es decir, una combinación farmacéutica dentro del alcance de esta invención podría incluir tres ingredientes activos o más.

20 Estudios clínicos adecuados pueden ser, por ejemplo, estudios de escalamiento de dosificación de etiqueta abierta en pacientes con enfermedades proliferativas. Tales estudios prueban en particular la sinergia de los ingredientes activos de la combinación de la invención. Los efectos benéficos en enfermedades proliferativas pueden ser determinados directamente a través de los resultados de estos estudios que son conocidos como tales para un experto en la técnica. Tales estudios pueden ser, en particular, adecuados para comparar los efectos de una monoterapia que usa los ingredientes activos y una combinación de la invención. Preferiblemente, la dosificación de un agente (a) es escalada hasta que se alcanza la Dosis Máxima Tolerada, y un agente (b) es administrado con una dosificación fija. Alternativamente, el agente (a) puede ser administrado en una dosificación fija y la dosificación del agente (b) puede ser escalada. Cada paciente puede recibir dosificaciones del agente (a) ya sea diariamente o intermitentemente. La eficacia del tratamiento puede ser determinada en tales estudios, por ejemplo, después de 12, 18 o 24 semanas por evaluación de puntajes de síntomas cada 6 semanas.

25 La administración de una combinación farmacéutica de la invención puede resultar no solamente en un efecto beneficioso, por ejemplo un efecto terapéutico sinérgico, por ejemplo con respecto a aliviar, retrasar la progresión o inhibir los síntomas, pero también en efectos beneficiosos sorprendentes adicionales, por ejemplo menores efectos secundarios, una mejor calidad de vida o una disminución de la morbilidad, en comparación con una monoterapia que aplica únicamente uno de los ingredientes activos farmacéuticamente usados en la combinación de la invención.

30 Un beneficio adicional puede ser que pueden usarse menores dosis de los ingredientes activos de la combinación de la invención, por ejemplo, que las dosificaciones no sólo necesitan usualmente ser más pequeñas sino también pueden ser aplicadas menos frecuentemente, lo cual puede disminuir la incidencia o severidad de efectos secundarios. Esto está de acuerdo con los deseos y requerimientos de los pacientes que van a ser tratados.

35 Es un objetivo de esta invención proveer una composición farmacéutica que comprende una cantidad de un primer componente y un segundo componente como se describió previamente, que pueden ser en forma conjunta terapéuticamente eficaces tomando como objetivo o previniendo enfermedades proliferativas. Estos primero y segundo componentes pueden ser proporcionados para administración en una combinación fija, es decir en una composición galénica individual, que puede ser preparada de una forma conocida per se, adecuada para administración entérica, tales como oral o rectal, y administración parenteral a mamíferos (animales de sangre caliente), que incluye humanos, en combinación con uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente

aceptables, especialmente adecuados para aplicación entérica o parenteral.

Alternativamente, el primer componente y el segundo componente pueden ser proporcionados como composiciones farmacéuticas separadas en un kit.

- 5 Las composiciones farmacéuticas para administración separada del primer componente y del segundo componente pueden ser preparadas en una forma conocida per se y son aquellas adecuadas para administración entérica, tales como oral o rectal, y parenteral a mamíferos (animales de sangre caliente), que incluyen humanos. Cada una de tales composiciones para administración separada comprende una cantidad efectiva terapéuticamente de al menos un componente activo farmacológicamente en combinación con uno o más vehículos o diluyentes aceptables farmacéuticamente.
- 10 Las composiciones farmacéuticas adecuadas pueden contener, por ejemplo, desde aproximadamente 0.1% hasta aproximadamente 99.9%, preferiblemente desde aproximadamente 1% hasta aproximadamente 60%, de los ingrediente(s) activo(s). Las preparaciones farmacéuticas para la terapia de combinación para administración entérica o parenteral son, por ejemplo, aquellas en formas de dosificación unitaria, tales como comprimidos recubiertos con azúcar, comprimidos, cápsulas o supositorios, o ampolletas. Si no se indica lo contrario, estas son preparadas en una forma conocida per se, por ejemplo por medio de procesos convencionales de mezcla,
- 15 granulación, recubrimiento con azúcar, disolución o liofilización. Se apreciará que el contenido unitario de un componente farmacéutico contenido en una dosificación individual de cada forma de dosificación, no necesita constituir por sí mismo una cantidad efectiva puesto que la cantidad efectiva necesaria puede ser alcanzada por administración de una pluralidad de unidades de dosificación.
- 20 En un método para tratar una enfermedad proliferativa, el primer componente y el segundo componente pueden ser administrados juntos, secuencialmente o separadamente. El primero y segundo componentes pueden ser entregados en una forma de dosificación unitaria combinada o en formas de dosificación unitaria separadas múltiples.
- 25 En particular, una cantidad efectiva terapéuticamente de cada uno de los componentes farmacéuticos de la invención puede ser administrada simultáneamente o secuencialmente y en cualquier orden, y los componentes pueden ser administrados separadamente o como una combinación fija. Por ejemplo, aquí se describe un método para prevenir o tratar enfermedades proliferativas que pueden comprender (i) administración del primer componente en forma libre o de sal aceptable farmacéuticamente y (ii) administración del segundo componente en forma libre o de sal aceptable farmacéuticamente, simultáneamente o secuencialmente en cualquier orden, en cantidades conjuntamente efectivas terapéuticamente, preferiblemente en cantidades efectivas sinérgicamente, por ejemplo en dosificaciones diarias o intermitentes que corresponden a las cantidades descritas aquí. Los componentes individuales de combinación de la combinación de la invención pueden ser administrados separadamente en diferentes tiempos durante el curso de la terapia o concurrentemente en formas de combinación individual o dividida. Adicionalmente, el término administrar también abarca el uso de un profármaco de un componente de combinación
- 30 que se convierte in vivo al asociado de combinación como tal. Debe entenderse por lo tanto que la presente invención abarca todos estos regímenes de tratamiento simultáneo o alternante y el término " administrar" ha de interpretarse en consecuencia.
- 35 La dosificación efectiva de cada uno de los componentes empleados en la combinación de la invención puede variar dependiendo del compuesto particular o composición farmacéutica empleada, el modo de administración, la condición que es tratada, la gravedad de la condición que es tratada. En consecuencia, el régimen de dosificación de la combinación de la invención es seleccionado de acuerdo con una variedad de factores que incluyen la ruta de administración y la función renal y hepática del paciente. Un médico clínico o un médico de habilidad ordinaria puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de los ingredientes activos individuales requeridos para aliviar, contrarrestar o detener el progreso de la condición. La precisión óptima en el logro de la concentración de los
- 40 ingredientes activos dentro del intervalo que produce eficiencia sin toxicidad, requiere un régimen basado en la cinética de la disponibilidad de los ingredientes activos en los sitios objetivo.
- 45 La cantidad de ingrediente activo que puede ser combinado con materiales vehículo para producir una forma de dosificación individual variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosificación específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, ruta de administración, rata de excreción, combinación de fármaco, y la severidad de la enfermedad particular que soporta. La cantidad efectiva terapéuticamente para una situación dada puede ser determinada fácilmente por experimentos de rutina y está dentro de la habilidad y juicio del médico ordinario.
- 50 Para propósitos de la presente invención, una dosificación efectiva terapéuticamente será generalmente una dosificación diaria total administrada a un huésped en dosificaciones individuales o divididas, puede estar en cantidades, por ejemplo, desde 0.001 a 1000 mg/kg de peso corporal diariamente y más preferida desde 1.0 a 30 mg/kg de peso corporal diariamente. Las composiciones unitarias de dosificación pueden contener tales cantidades de submúltiplos de los mismos para sumar la dosificación diaria.
- 55

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I), los inhibidores de HER2 y las composiciones farmacéuticas que comprenden estos ingredientes activos, pueden ser administrados oralmente, de manera parenteral, de manera sublingual, por formación de aerosol o inhalación por atomización, rectalmente, o tópicamente en formulaciones unitarias de dosificación que contienen portadores, adyuvantes y vehículos aceptables farmacéuticamente no tóxicos convencionales, como se desee. La administración tópica también puede involucrar el uso de administración transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de ionoforesis. El término parenteral como se usa aquí incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, inyección intraesternón o técnicas de infusión.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden ser formuladas de acuerdo a la técnica conocida, usando agentes de dispersión o agentes humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente aceptable de forma parenteral no tóxica, por ejemplo, como una solución en 1,3-propanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden ser empleados están agua, solución de Ringer, y solución de cloruro de sodio isotónica. Adicionalmente, aceites estériles, fijos son empleados convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito puede emplearse cualquier aceite fijo blando incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Adicionalmente, ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

Los supositorios para administración rectal del fármaco pueden ser preparados por mezcla del fármaco con un excipiente no irritante adecuado tal como manteca de cacao y polietilenglicoles, que son sólidos a temperaturas ordinarias pero líquidos en la temperatura rectal y por lo tanto se fundirán en el recto y liberarán el fármaco.

Las formas sólidas de dosificación para administración oral pueden incluir cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos, y gránulos. En tales formas sólidas de dosificación, el compuesto activo puede ser mezclado con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa, o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como es práctica normal, sustancias adicionales diferentes a diluyentes inertes como por ejemplo, agentes de lubricación tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos, y píldoras las formas de dosificación también comprenden agentes de amortiguación. Los comprimidos y píldoras pueden ser adicionalmente preparados con recubrimientos entéricos.

Las formas de dosificación líquida para administración oral pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones jarabes, y elixires farmacéuticamente aceptables que contienen diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como agua. Tales composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes de emulsificación y suspensión, ciclodextrinas, y edulcorantes, aromatizantes, y agentes perfumadores.

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I), inhibidores de HER2 y composiciones farmacéuticas descritos aquí, también pueden ser administrados en la forma de liposomas. Como es conocido en la técnica, los liposomas son generalmente derivados de fosfolípidos u otras sustancias lípidas. Los liposomas están formados por cristales líquidos hidratados mono o multilamelares que se dispersan en un medio acuoso. Puede ser usado cualquier lípido no tóxico, aceptable fisiológicamente y que se pueda metabolizar, capaz de formar liposomas. Las presentes composiciones en forma de liposomas pueden contener, además de un compuesto de la presente invención, estabilizantes, conservantes, excipientes, y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y fosfatidilcolinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticos. Los métodos para formar liposomas son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Prescott (ed.), "Methods in Cell Biology," Volume XIV, Academic Press, Nueva York, 1976, p. 33 et seq.

Los términos "enfermedad proliferativa" y "trastorno proliferativo" incluyen pero no están limitados a cáncer, por ejemplo tumores sólidos, por ejemplo, por ejemplo cáncer de mama.

### Ejemplos

**Ejemplo 1:** Efecto antitumoral del compuesto I ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida cuando es usado en combinación con trastuzumab en un modelo de xenoinjerto de carcinoma de mama humano en ratones desnudos.

Se usa la línea celular de receptor de estrógeno positivo BT-474 (ATCC, número HTB-20) que es una línea celular de carcinoma de mama humano. Las células se cultivan en DMEM de alta glucosa (4.5 g/l) suplementada con FCS 10%, L-glutamina 200 mM y 1% de piruvato de sodio.

En preparación para la inoculación celular, cada ratón es implantado subcutáneamente en el lado dorsal superior con una pella de 17 $\beta$ -Estradio (25 microgramo/día; liberación de 90 días) usando una aguja trócar. Las células BT-474 ( $5 \times 10^6$ ) son inyectadas en 200 microlitros de Matrigel:HBSS (1:1 vol) (BD Matrigel™ Basement Membrane Matrix). El sitio de la inyección es por vía subcutánea en el flanco derecho. Se inicia tratamiento con el compuesto I cuando el volumen promedio del tumor alcanza 100 mm<sup>3</sup> aproximadamente. El crecimiento del tumor es vigilado en intervalos regulares. Los tamaños de los tumores de xenoinjertos se miden manualmente con pinzas y el volumen del tumor se calcula utilizando la fórmula:  $(W \times L^2 \times \pi/6)$ , donde el ancho (W) y la longitud (L) son los dos diámetros más grandes. Los resultados se presentan como media  $\pm$  SEM. Los datos del tumor se analizaron mediante ANOVA con la prueba de Dunnet post hoc para la comparación del tratamiento en comparación con el grupo de control.

Como una medida de la eficacia, se calcula el valor %T/C al final del experimento de acuerdo con:

$$(\Delta \text{ volumen de tumor}_{\text{tratado}} / \Delta \text{ volumen de tumor}_{\text{tratado}}) * 100$$

En donde  $\Delta$  volumen de tumor representa la media del volumen de tumor en el día de evaluación menos la media del volumen de tumor al inicio del experimento.

- 5 La regresión de tumor es presentada como el cambio absoluto relativo en volumen de tumor desde el inicio hasta el final de experimento  $(-(\text{Volumen de tumor día de evaluación} - \text{Volumen de tumor día de inicio}) / \text{Volumen de tumor día de inicio} * 100)$ .

10 El efecto antitumoral del compuesto I y trastuzumab es evaluado en el modelo de xenoinjerto BT-474 (Fig. 1). El período de tratamiento es 21 días y cada grupo de tratamiento consiste en 8 animales portadores de tumor. Los tamaños de tumor en los grupos de tratamiento se comparan con aquellos de los grupos tratados con vehículo y el efecto se expresa como %T/C o regresión cuando sea aplicable. El trastuzumab es administrado por vía intravenosa (i.v.) dos veces por semana a un nivel de dosificación de 5 mg/kg. El compuesto I es administrado i.v. una vez por semana con una dosificación de 15 mg/kg.

15 La Tabla 1 muestra que 5 mg/kg de trastuzumab que es administrado i.v. dos veces por semana resulta en una reducción del 57% en carga tumoral. El compuesto I que es administrado una vez por semana (qw) en una dosificación de 15 mg/kg da una reducción de 4% en carga tumoral (diferencia no significativa estadísticamente de los animales tratados con vehículo). Se observó que la combinación de los dos agentes resulta en un efecto antitumoral fuertemente reforzado en comparación con cualquiera de los dos solos como regresión de tumor de 22%. Estos datos proporcionan apoyo preclínico fuerte para combinar trastuzumab con compuesto I contra cáncer de mama positivo ERBB2.

20

Tabla 1

Compuesto	Dosificación, programación, ruta	T/C (%)	Regresión (%)	$\Delta$ Volumen de tumor (mm <sup>3</sup> )
Control de vehículo	10 ml/kg, qw, i.v.	100	-	970 ± 208
Trastuzumab	5 mg/kg, 2qw, i.v.	43	-	415 ± 155
Compuesto I	15 mg/kg, qw, i.v.	96	-	929 ± 152
Compuesto I + Trastuzumab	15 mg/kg, qw, i.v. 5 mg/kg, 2qw, i.v.	-	22	-48 ± 31*

\* P < 0.05; ANOVA unidireccional prueba de Dunnet post hoc.

**REIVINDICACIONES**

1. Una combinación farmacéutica que comprende
  - a) un inhibidor de HSP90 y
  - b) un inhibidor de HER2,
- 5 en la que el inhibidor de HSP90 es ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4- ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida,
  - o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo;y el inhibidor de HER2 es trastuzumab.
2. La combinación de la reivindicación 1, en la que la combinación es un kit.
- 10 3. La combinación de la reivindicación 1, en la que la combinación es una composición farmacéutica.
4. Una combinación que comprende al menos un compuesto inhibidor de HSP90 y al menos un inhibidor de HER2 para uso en un método para tratar una enfermedad proliferativa que comprende administración a un paciente en necesidad del mismo, de una cantidad eficaz de dicho inhibidor de HSP90 el cual es ácido 5-(2,4-Dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4- ilmetil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico etilamida, o una sal aceptable farmacéuticamente
- 15 del mismo, como un primer agente farmacéutico, y dicho inhibidor de HER2 el cual es trastuzumab como un segundo agente farmacéutico.
5. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en la que dicho trastorno proliferativo es cáncer de mama.
- 20 6. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en la que cada agente es administrado simultáneamente o secuencialmente y en cualquier orden.
7. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en la que cada agente es administrado de forma separada o como una combinación fija.

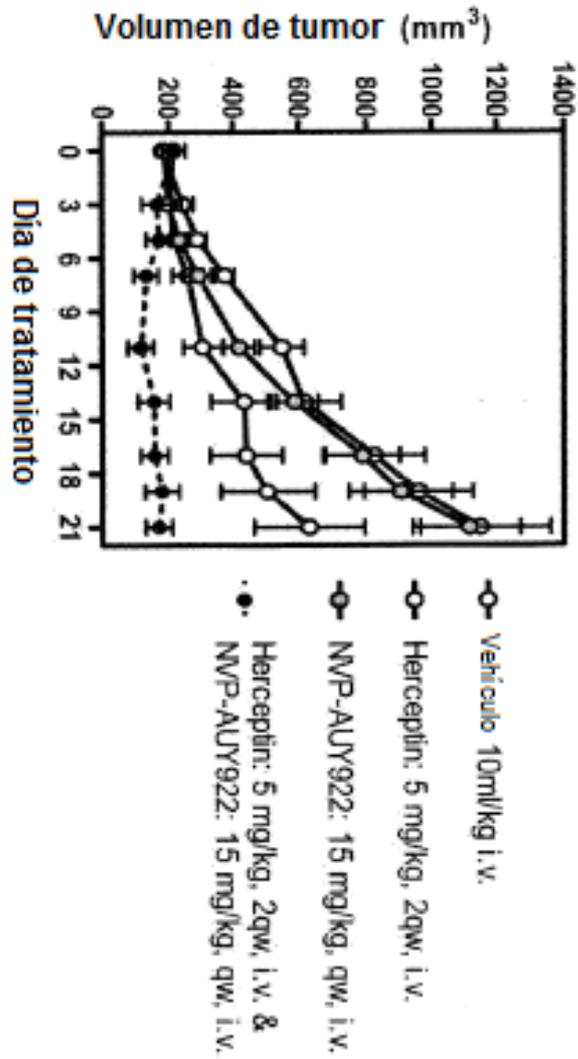


FIG. 1