

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 606 505**

51 Int. Cl.:

A61K 31/337 (2006.01)
A61K 31/421 (2006.01)
A61K 31/426 (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 31/475 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.01.2008 PCT/EP2008/050300**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **17.07.2008 WO08084103**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.01.2008 E 08707865 (5)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2016 EP 2117531**

54 Título: **Tratamiento de combinación de cánceres sólidos con antimetabolitos e inhibidores de tirosina quinasa**

30 Prioridad:

12.01.2007 US 884743 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.03.2017

73 Titular/es:

**AB SCIENCE (100.0%)
3, AVENUE GEORGE V
75008 PARIS, FR**

72 Inventor/es:

**MOUSSY, ALAIN y
KINET, JEAN-PIERRE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 606 505 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

Tratamiento de combinación de cánceres sólidos con antimetabolitos e inhibidores de tirosina quinasa

La presente invención se refiere a una combinación para uso en el tratamiento de cánceres sólidos, incluyendo cáncer no microcítico de pulmón, de páncreas, de vejiga, de mama y cáncer de ovario, cáncer de próstata, así como cánceres del tracto biliar avanzados, que comprende administrar al menos un agente antineoplásico tal como un análogo de nucleótido, por ejemplo gemcitabina, o un antimetabólico, tal como docetaxel, en combinación con un inhibidor de la tirosina quinasa seleccionado de 2-aminoariltiazoles y 2-aminoariloxazoles.

Antecedentes de la invención

De las cinco causas principales en el mundo occidental de muerte por cáncer, el cáncer de páncreas es la cuarta causa. El pronóstico para los pacientes diagnosticados es pobre, con 5 años de tasa de supervivencia global menos del 5%, 12 meses de tasa de supervivencia el 10%, y un tiempo de supervivencia medio de aproximadamente 3-5 meses después de la detección de los tumores. Las principales razones para estos malos resultados son la incapacidad de diagnosticar el cáncer de páncreas en una etapa temprana debido a la falta de síntomas específicos, el lugar inaccesible del páncreas, y la aparición temprana de la enfermedad metastásica. Hasta la fecha, los actuales regímenes de radiación y quimioterapia no han conseguido una mejora significativa en la supervivencia a largo plazo de los pacientes con cáncer de páncreas, haciendo hincapié en la importancia de desarrollar nuevas terapias de combinación más eficaces contra las fases avanzadas de la enfermedad.

Las causas del cáncer de páncreas todavía no están bien comprendidas, pero cada vez se dirige más atención hacia el papel de los factores de crecimiento en la patogénesis de la enfermedad. Numerosos factores de crecimiento y sus receptores se sobre-expresan durante la progresión del cáncer de páncreas, tales como EGF, PDGF y VEGF, lo que sugiere la importancia en la evaluación del inhibidor selectivo del receptor tirosina quinasa en esta enfermedad.

La gemcitabina (2',2'-difluoro-2',- desoxicidina) es un análogo de nucleósido de desoxicidina comercializado como Gemzar™ que interfiere con la síntesis de ADN a través de la inhibición de la ribonucleótido reductasa y la competencia con dCTP para su incorporación en el ADN. Actualmente, es el tratamiento de referencia para varios tipos de cáncer, tales como los cánceres de páncreas y se asocia con la radioterapia. Sin embargo, el protocolo de tratamiento con gemcitabina sola tiene poca influencia en la supervivencia de los pacientes.

Por lo tanto, a día de hoy, no existe una cura para el cáncer de páncreas.

Se está realizando mucha investigación para encontrar compuestos que o bien actúan en sinergia o abolen la resistencia a gemcitabina observada en numerosos tipos de cáncer. A pesar de los numerosos esfuerzos, los datos obtenidos hasta la fecha sugieren la implicación de la familia de genes Bc12 en la resistencia del cáncer pancreático a la gemcitabina, pero no ha conducido a una mejora significativa de los protocolos de tratamiento. Además, varios intentos para encontrar una terapia de combinación efectiva se han descrito, pero sin éxito. Por ejemplo, han sido co-administrados con gemcitabina compuestos anti-angiogénesis pero no se ha observado hasta ahora ninguna mejora en la supervivencia. También se ha llevado a cabo investigación dentro de un tratamiento de cáncer pancreático con el inhibidor de tirosina quinasa imatinib que reconoce PDGF-R, c-KIT y BCR-Abl. Aunque el imatinib solo no ha mostrado ningún efecto significativo, su uso combinado con gemcitabina fue efectivo en modelos de tumor experimentales y se investigó clínicamente (Kleespies et al, 2006). Los inhibidores de tirosina quinasa, por tanto, pueden conducir al desarrollo de nuevos tratamientos para el cáncer pancreático.

El AB1010 (masitinib) es un nuevo inhibidor de la tirosina quinasa desarrollado por parte de AB Science de los derivados de 2-aminoariltiazoles que reconocen los receptores de c-kit y PDGFR β , y que son la materia objeto de la patente WO 2004/014903. El AB1010 se está evaluando actualmente en ensayos clínicos en varios tumores malignos y hasta el momento los resultados son muy alentadores.

Los datos preclínicos presentados en este documento muestran claramente que AB1010 invierte la resistencia de líneas de células tumorales pancreáticas frente a la gemcitabina. Estos resultados muestran que AB1010 tiene un gran potencial como terapia de combinación en pacientes tratados con gemcitabina para varios tipos de cáncer, como el cáncer no microcítico de pulmón de células, de páncreas, de vejiga, de mama y de ovario, así como los cánceres del tracto biliar avanzados. También se encontró que AB1010 respondía a la acción de antimetabólicos tales como el docetaxel. Aunque el mecanismo de acción exacto de los 2-aminoariltiazoles, que son inhibidores de c-kit/PDGFR como se define en este documento más adelante, aún no está completamente dilucidado, los inventores descubrieron que estos inhibidores de tirosina quinasa son capaces de bloquear la vía FAK en el contexto de las células cancerosas que resisten al tratamiento con gemcitabina convencional o docetaxel. El bloqueo de la vía FAK podría explicar la sensibilización de los agentes quimioterapéuticos cuando las células tumorales pierden sus propiedades de adherencia impidiendo la migración de células. En cualquier caso, este descubrimiento también implica que las células cancerosas tratadas con los compuestos anteriores son menos propensas a la metástasis.

Por lo tanto, se proporciona en este documento por primera vez un tratamiento combinado de cánceres sólidos con al menos un antimetabolito, tal como gemcitabina o docetaxel, y un inhibidor de la tirosina quinasa seleccionado de

2-aminoariltiazol y 2-aminoariloxazol que permite invertir la resistencia así como sensibilizar a las células cancerígenas respecto a la quimioterapia estándar.

Descripción

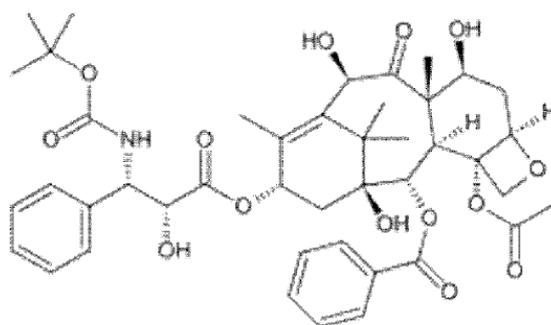
5 La presente invención se refiere en general al campo del tratamiento del cáncer sólido. Se proporciona una nueva combinación para uso en el tratamiento de cánceres sólidos que comprende la administración de un 2-aminoariltiazol o 2-aminoariloxazol de fórmula II como se define en este documento más abajo (documentos WO 2004/014903 y WO 2005/040139) y al menos un agente antineoplásico, más particularmente al menos un agente antineoplásico seleccionado de antimetabolitos, tales como un análogo de nucleótido y/o un agente antimitótico, en pacientes en necesidad de tal tratamiento, en el que el cáncer sólido es resistente a dicho al menos agente antineoplásico.

Entre los cánceres sólidos, la invención se refiere más específicamente al tratamiento del cáncer no microcítico de pulmón, cáncer de páncreas, de vejiga, de mama y cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer del esófago, así como a los cánceres de las vías biliares avanzados.

15 Por "agente antineoplásico" se entiende en este documento medicamentos comercializados para el tratamiento de cánceres, por ejemplo, los compuestos que se muestran en Actualité Pharmaceutiques n° 302 (octubre de 1992) páginas 38 a 39 y 41 a 43, incorporado como referencia.

Más específicamente, se hará referencia a antimetabolitos seleccionados de antimitóticos que son compuestos conocidos en la técnica para inhibir la mitosis, por ejemplo, mediante la inhibición de la despolimerización de tubulina. Estos antimetabolitos incluyen docetaxel, paclitaxel, vinblastina, vinorelbina y etopósido.

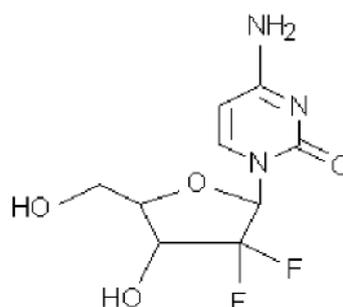
20 Por ejemplo, docetaxel (número CAS 114977-28-5, Taxotere™), como se muestra a continuación, es eficaz contra numerosos tumores y especialmente en cáncer de mama metastásico, cánceres de pulmón y próstata:



Otros antimetabolitos son análogos de nucleótidos que incluyen, pero no se limitan a:

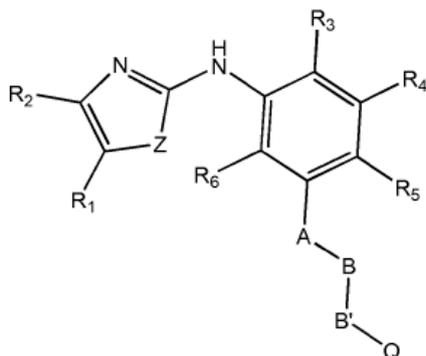
25 análogos de purina tales como tio-6-guanina, pentostatina, análogos de pirimidina tales como citosina arabinosida, fluoro-5-uracilo (5-FU), fluorouridina-desoxirribosa, capecitabina o gemcitabina, así como análogos de adenina tales como la fludarabina. Como se define en este documento, los antimetabolitos no abarcan 2-cloro-2'-desoxiadenosina (2-CDA), cladribina, Merck Index (12ª ed.) n° 2397.

Por ejemplo, el antimetabolito es gemcitabina número CAS 95058-81-4 (4-amino-1-[3,3-difluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-il]-1H-pirimidin-2-ona):



30 La gemcitabina reemplaza a la citidina durante la replicación del ADN dando como resultado la apoptosis en células cancerígenas. Se utiliza en diversos carcinomas: cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de páncreas y cáncer de mama y está siendo investigado para su uso en el cáncer de esófago.

2-Aminoariltiazol o 2-aminoariloxazol (en lo sucesivo en este documento como compuestos AB) de acuerdo con la presente descripción, puede representarse por compuestos de fórmula I, que pueden estar tanto en la forma de su base libre como en las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos:



5 Fórmula I

en donde los sustituyentes Z, A, B, B', Q y R1-R6 en la fórmula I se definen como sigue:

Z es oxígeno o azufre.

A y B' es uno de los siguientes:

- i) (R7)N(CH2)_n donde n es 0 ó 1
- 10 ii) O(CH2)_n donde n es 0 ó 1
- iii) S(CH2)_n donde n es 0 ó 1
- iv) (CH2)_n donde n es 0, 1 ó 2
- v) C(O)(CH2)_n donde n es 0 ó 1

15 o cuando A y B' son cada uno un átomo de nitrógeno, pueden tomarse juntos para formar un radical bivalente de fórmula:



donde s y t es independientemente cada uno 1 ó 2 y X1 es O, S, NR₁₀, N[C(=O)R₁₀] o (CH₂)_n donde n es 0 ó 1, y en el que cada hidrógeno en dicha fórmula (a) puede estar sustituido con halo o alquilo C₁₋₄.

B es uno de los siguientes:

- 20 i) (R7)N
- ii) Oxígeno
- iii) S(O)_n, donde n es 0, 1 ó 2
- iv) CH(R7)(R8)
- v) C = δ, donde δ es oxígeno, azufre, NH o N-CN
- 25 vi) C(R7) = C(R8)
- vii) N=C(R7)

R7 y R8 son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, hidroxialquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄.

R1 y R2 se selecciona de:

- 30 i) hidrógeno, halógeno (seleccionado entre F, Cl, Br o I), o
- ii) un grupo alquilo¹ definido como un grupo lineal, ramificado o cicloalquilo que contiene de 1 a 10 átomos de carbono (tales como, por ejemplo, de 2 a 4 o de 1 a 5 o 1, 2, 3, 4, o 5 átomos de carbono) y opcionalmente sustituido con uno o más heteroátomos tales como halógeno (seleccionado entre F, Cl, Br o I), oxígeno y nitrógeno (este último

- opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básico pendiente); así como trifluorometilo, carboxilo, ciano, nitro, formilo; así como CO-R, COO-R, CONH-R, SO₂-R, y SO₂NH-R en donde R es un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 10 átomos de carbono y opcionalmente sustituido con al menos un heteroátomo, en particular un halógeno (seleccionado entre F, Cl, Br o I), oxígeno y nitrógeno, este último opcionalmente en la forma
- 5 de una funcionalidad de nitrógeno básico pendiente; así como un grupo cicloalquilo o arilo¹ o heteroarilo¹ opcionalmente sustituido con una funcionalidad de nitrógeno básico pendiente, o
- iii) un grupo arilo¹ definido como fenilo o una variante sustituida del mismo con cualquier combinación, en cualquier posición del anillo, de uno o más sustituyentes tales como
- Halógeno (seleccionado entre I, F, Cl o Br);
 - 10 - un grupo alquilo¹;
 - un grupo cicloalquilo, arilo o heteroarilo sustituido opcionalmente por una funcionalidad de nitrógeno básico pendiente;
 - trifluorometilo, O-alquilo¹, carboxilo, ciano, nitro, formilo, hidroxilo, NH-alquilo¹, N(alquilo¹) (alquilo¹) y amino, estos últimos sustituyentes del nitrógeno opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básico;
 - 15 - NHCO-R o NHCOO-R o NHCONH-R o NHSO₂-R o NHSO₂NH-R o CO-R o COO-R o CONH-R o SO₂-R o SO₂NH-R o C(NO₂)NH₂, C(N)NH₂ en la que R corresponde a hidrógeno, alquilo¹, arilo o heteroarilo, o
- iv) un grupo heteroarilo¹ definido como un grupo piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, tienilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, pirrolilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, indolilo, benzimidazol, benzoxazol, benzotiazol, grupo quinolinilo, que adicionalmente puede llevar cualquier combinación, en cualquier posición del
- 20 anillo, de uno o más sustituyentes tales como:
- halógeno (seleccionado entre F, Cl, Br o I);
 - un grupo alquilo¹;
 - un grupo cicloalquilo, arilo o heteroarilo sustituido opcionalmente por una funcionalidad de nitrógeno básico pendiente,
 - 25 - trifluorometilo, O-alquilo¹, carboxilo, ciano, nitro, formilo, hidroxilo, NH-alquilo¹, N(alquilo¹)(alquilo¹) y amino, estos últimos sustituyentes del nitrógeno opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básico;
 - NHCO-R o NHCOO-R o NHCONH-R o NHSO₂-R o NHSO₂NH-R o CO-R o COO-R o CONH-R o SO₂-R o SO₂NH-R en la que R corresponde a hidrógeno, alquilo¹, o
- v) un grupo O-arilo¹, o NH-arilo¹, u O-heteroarilo¹ o NH-heteroarilo¹
- 30 vi) trifluorometilo, O-alquilo¹, carboxilo, ciano, nitro, formilo, hidroxilo, NH-alquilo¹, N(alquilo¹)(alquilo¹) y amino, estos últimos sustituyentes del nitrógeno opcionalmente en forma de una funcionalidad de nitrógeno básico, o
- vi) NHCO-R o NHCOO-R o NHCONH-R o NHSO₂-R o NHSO₂NH-R o CO-R o COO-R o CONH-R o SO₂-R o SO₂NH-R en la que R corresponde a hidrógeno, alquilo¹, arilo¹ o heteroarilo¹.
- R₃, R₄, R₅ y R₆ cada uno independientemente se seleccionan de hidrógeno, halógeno (seleccionado entre F, Cl, Br o I), un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 10 átomos de carbono y, opcionalmente sustituido con uno o más heteroátomos tales como halógeno (seleccionado entre F, Cl, Br o I), oxígeno y nitrógeno, este último opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básico pendiente; así como trifluorometilo, alquiloxi C₁₋₆, amino, alquilamino C₁₋₆, di(alquil C₁₋₆)amino, carboxilo, ciano, nitro, formilo, hidroxilo, y CO-R, COO-R, CONH-R, SO₂-R, y SO₂NH-R donde R corresponde a hidrógeno, alquilo¹, arilo o heteroarilo.
- 40 y en el que Q se selecciona de:
- i) alquilo¹
 - ii) arilo¹
 - iii) heteroarilo¹
- como se define anteriormente.
- 45 A menos que se especifique lo contrario, los siguientes términos utilizados en esta memoria se definen como sigue:
- Tal como se utiliza en este documento, la expresión "grupo arilo" significa un radical aromático monocíclico o policíclico que comprende átomos de carbono e hidrógeno. Los ejemplos de grupos arilo adecuados incluyen, pero

no se limitan a, fenilo, toliolo, antraceno, fluoreno, indeno, azuleno y naftilo, así como restos carbocíclicos benzocondensados tales como 5,6,7,8-tetrahidronaftilo. Un grupo arilo puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes.

5 En una realización, el grupo arilo es un anillo monocíclico, en el que el anillo comprende 6 átomos de carbono, referido en este documento como "arilo (C6)".

10 Tal como se utiliza en este documento, la expresión "grupo alquilo" significa una cadena lineal saturada o hidrocarburo no cíclico ramificado que tiene de 1 a 10 átomos de carbono. Los alquilos de cadena lineal saturados representativos incluyen metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo y n-decilo; mientras que los alquilos ramificados saturados incluyen isopropilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, isopentilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 4-metilpentilo, 2-metilhexilo, 3-metilhexilo, 4-metilhexilo, 5-metilhexilo, 2,3-dimetilbutil, 2,3-dimetilpentilo, 2,4-dimetilpentilo, 2,3-dimetilhexilo, 2,4-dimetilhexilo, 2,5-dimetilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,2-dimetilhexilo, 3,3-dimetilpentilo, 3,3-dimetilhexilo, 4,4-dimetilhexilo, 2-etilpentilo, 3-etilpentilo, 2-etilhexilo, 3-etilhexilo, 4-etilhexilo, 2-metil-2-etilpentilo, 2-metil-3-etilpentilo, 2-metil-4-etilpentilo, 2-metil-2-etilhexilo, 2-metil-3-etilhexilo, 2-metil-4-etilhexilo, 2,2-dietilpentilo, 3,3-dietilhexilo, 2,2-dietilhexilo, 3,3-dietilhexilo y similares. Los grupos alquilo incluidos en los compuestos de esta invención pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes.

Tal como se utiliza en este documento, el término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo que está unido a otro resto mediante un átomo de oxígeno. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen metoxi, isopropoxi, etoxi, terc-butoxi, y similares. Los grupos alcoxi pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes.

20 Tal como se utiliza en este documento, el término "heteroarilo" o términos similares significa un anillo monocíclico o policíclico heteroaromático que comprende miembros del anillo de átomos de carbono y uno o más miembros del anillo heteroátomo (tales como, por ejemplo, oxígeno, azufre o nitrógeno). Típicamente, un grupo heteroarilo tiene de 1 a aproximadamente 5 miembros de anillo heteroátomo y de 1 a aproximadamente 14 miembros de anillo de átomos de carbono. Los grupos heteroarilo representativos incluyen piridilo, 1-oxo-piridilo, furanilo, benzo[1,3]dioxolilo, benzo[1,4]dioxinilo, tienilo, pirrolilo, oxazolilo, imidazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, quinolinilo, pirazolilo, isotiazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, triazolilo, tiadiazolilo, isoquinolinilo, indazolilo, benzoxazolilo, benzofurilo, indolizínilo, imidazopiridilo, tetrazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzoxadiazolilo, indolilo, tetrahidroindolilo, azaindolilo, imidazopiridilo, quinazolinilo, purinilo, pirrolo[2,3]pirimidinilo, pirazolo[3,4]pirimidinilo, imidazo[1,2-a]piridilo, y benzo(b)tienilo. Un heteroátomo puede estar sustituido con un grupo protector conocido por los expertos ordinarios en la técnica, por ejemplo, el hidrógeno en un átomo de nitrógeno puede estar sustituido con un grupo terc-butoxicarbonilo. Los grupos heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes. Además, los miembros de anillo de un heteroátomo de nitrógeno o azufre pueden estar oxidados. En una realización, el anillo heteroaromático se selecciona de anillos heteroarilo monocíclicos de 5-8 miembros. El punto de unión de un anillo heteroaromático o heteroarilo a otro grupo puede estar en un átomo de carbono o un heteroátomo de los anillos heteroaromáticos o de heteroarilo.

El término "heterociclo", como se usa en este documento, se refiere colectivamente a grupos heterocicloalquilo y grupos heteroarilo.

40 Tal como se utiliza en este documento, el término "heterocicloalquilo" significa un grupo monocíclico o policíclico que tiene al menos un heteroátomo seleccionado de O, N o S, y que tiene 2-11 átomos de carbono, que pueden ser saturados o insaturados, pero no es aromático. Ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyendo (pero no limitados a): piperidinilo, piperazinilo, 2-oxopiperazinilo, 2-oxopiperidinilo, 2-oxopirrolidinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, hidantoinilo, valerolactamilo, oxiranilo, oxetanilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, tetrahidropiridinilo, tetrahidropirimidinilo, sulfona tetrahidrotiopiranilo, sulfóxido de tetrahidrotiopiranilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tiomorfolinilo sulfóxido, tiomorfolinilo sulfona, 1,3-dioxolano, tetrahidrofuranilo, dihidrofuranilo-2-ona, tetrahidrotienilo, y tetrahydro-1,1-dioxotienilo. Por lo general, los grupos heterocicloalquilo monocíclicos tienen de 3 a 7 miembros. Los grupos heterocicloalquilo monocíclicos de 3 a 7 miembros preferidos son los que tienen 5 ó 6 átomos en el anillo. Un heteroátomo puede estar sustituido con un grupo protector conocido por los expertos ordinarios en la técnica, por ejemplo, el hidrógeno en un átomo de nitrógeno puede estar sustituido con un grupo terc-butoxicarbonilo. Además, los grupos heterocicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes. Además, el punto de unión de un anillo heterocíclico a otro grupo puede estar en un átomo de carbono o un heteroátomo de un anillo heterocíclico. Sólo isómeros estables de tales grupos heterocíclicos sustituidos se contemplan en esta definición.

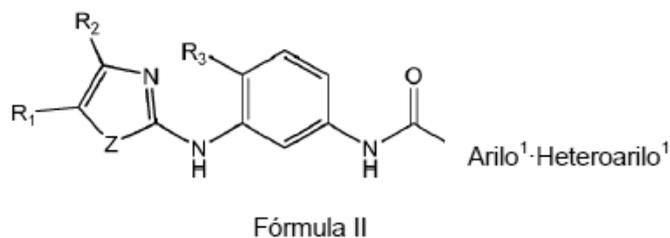
55 Tal como se utiliza en este documento, el término "sustituyente" o "sustituido" significa que un radical hidrógeno en un compuesto o grupo se reemplaza con cualquier grupo deseado que sea sustancialmente estable a las condiciones de reacción en una forma no protegida o cuando está protegido usando un grupo protector. Ejemplos de sustituyentes preferidos son los encontrados en los compuestos ejemplares y realizaciones descritas en este documento, así como halógeno (cloro, yodo, bromo, o fluro); alquilo; alqueno; alquino; hidroxilo; alcoxi; nitro; tiol; tioéter; imina; ciano; amido; fosfonato; fosfina; carboxilo; tiocarbonilo; sulfonilo; sulfonamida; cetona; aldehído; éster; oxígeno (-O); haloalquilo (por ejemplo, trifluorometilo); cicloalquilo, que puede ser monocíclico o policíclico fusionado o no fusionado (por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo), o un heterocicloalquilo, que puede ser monocíclico o policíclico fusionado o no fusionado (por ejemplo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo,

o tiazinilo), monocíclico o arilo policíclico o heteroarilo fusionado o no fusionado (por ejemplo, fenilo, naftilo, pirrolilo, indolilo, furanilo, tiofenilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, piridilo, quinolinilo, isoquinolinilo, acridinilo, pirazinilo, piridazinilo, pirimidinilo, bencimidazolilo, benzotiofenilo, o benzofuranilo); amino (primario, secundario, o terciario); CO₂CH₃; CONH₂; OCH₂CONH₂; NH₂; SO₂NH₂; OCHF₂; CF₃; OCF₃; y tales restos también pueden estar opcionalmente sustituidos por una estructura de anillos condensados o un puente, por ejemplo -OCH₂O-. Estos sustituyentes pueden opcionalmente estar además sustituidos con un sustituyente seleccionado entre tales grupos. En ciertas realizaciones, el término "sustituyente" o el adjetivo "sustituido" se refiere a un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en un alquilo, un alquenilo, un alquinilo, un cicloalquilo, un cicloalquenilo, un heterocicloalquilo, un grupo arilo, un heteroarilo, un aralquilo, un heteroralquilo, un haloalquilo, -C(O)NR₁₁R₁₂, -NR₁₃C(O)R₁₄, un halo, -OR₁₃, ciano, nitro, un haloalcoxi, -C(O)R₁₃, -NR₁₁R₁₂, -SR₁₃, -C(O)OR₁₃, -OC(O)R₁₃, -NR₁₃C(O)NR₁₁R₁₂, -OC(O)NR₁₁R₁₂, -NR₁₃C(O)OR₁₄, -S(O)rR₁₃, -NR₁₃S(O)rR₁₄, -OS(O)rR₁₄, S(O)rNR₁₁R₁₂, -O, -S, y -N-R₁₃, en el que r es 1 ó 2; R₁₁ y R₁₂, para cada caso son, independientemente, H, un alquilo opcionalmente sustituido, un alquenilo opcionalmente sustituido, un alquinilo opcionalmente sustituido, un cicloalquilo opcionalmente sustituido, un cicloalquenilo opcionalmente sustituido, un cicloalquenilo opcionalmente sustituido, un heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, un arilo opcionalmente sustituido, un heteroarilo opcionalmente sustituido, un aralquilo opcionalmente sustituido, o un heteroralquilo opcionalmente sustituido; o R₁ y R₁₂ tomados junto con el nitrógeno al que están unidos es heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y R₁₃ y R₁₄, para cada aparición son, independientemente, H, un alquilo opcionalmente sustituido, un alquenilo opcionalmente sustituido, un alquinilo opcionalmente sustituido, un cicloalquilo opcionalmente sustituido, un cicloalquenilo opcionalmente sustituido, un heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, un arilo opcionalmente sustituido, un heteroarilo opcionalmente sustituido, un aralquilo opcionalmente sustituido, o un heteroralquilo opcionalmente sustituido.

El término "cicloalquilo" significa un radical alquilo cíclico saturado que tiene de 3 a 10 átomos de carbono. Cicloalquilos representativos incluyen ciclopropilo, 1-metilciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclonoilo, y ciclodecilo. Los grupos cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes.

El término "halógeno" significa -F, -Cl, -Br o -I.

Entre los compuestos particulares de fórmula I, la invención está dirigida a compuestos de la siguiente fórmula II:

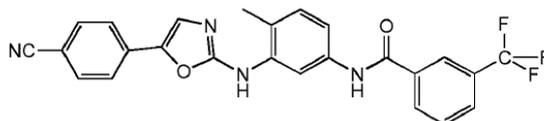


Z es oxígeno o azufre.

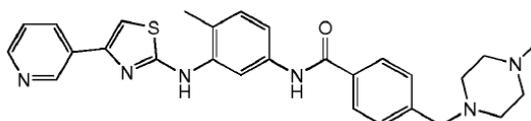
Arilo¹, heteroarilo¹, R₁, R₂ y R₃ tienen el significado descrito anteriormente.

Un ejemplo de compuestos preferidos de la fórmula anterior se representa a continuación:

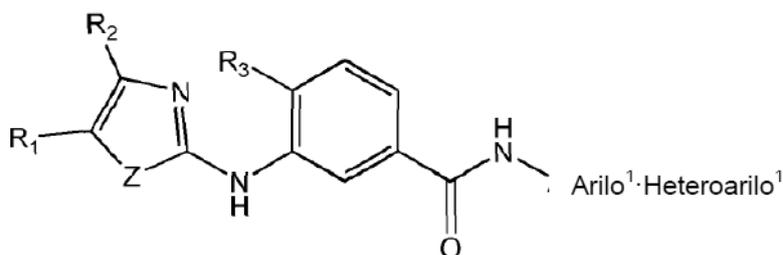
001: N-{3-[5-(4-ciano-fenil)-oxazol-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluoro-metil benzamida



002: 4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-tiazol-2-ilamino)-fenil]-benzamida (masitinib-AB1010)



Entre los compuestos particulares de fórmula I, se describen en este documento los compuestos de la siguiente fórmula III:



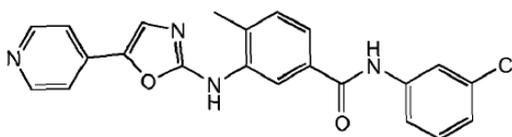
Fórmula III

Z es oxígeno o azufre.

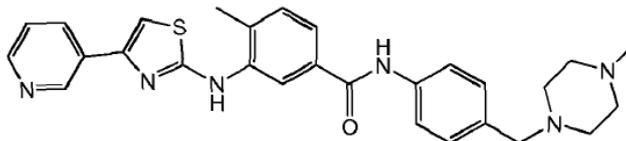
Arilo¹, heteroarilo¹, R₁, R₂ y R₃ tienen el significado descrito anteriormente.

5 Un ejemplo de compuestos preferidos de la fórmula anterior se representa a continuación:

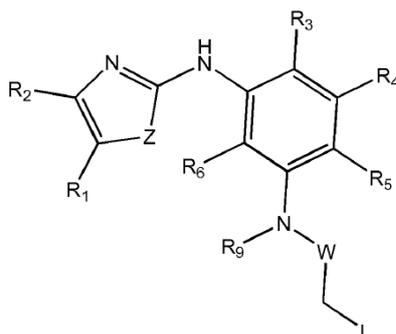
003: N- (3-cloro-fenil) -4-metil-3- (5-piridin-4-il-oxazol-2-ilamino) -benzamida



004: 4-metil-N- [4- (4-metil-piperazin-1-ilmetil) -fenil] -3- (4-piridin-3-il-tiazol-2-ilamino) -benzamida



10 Entre los compuestos particulares de fórmula I, se describen en este documento los compuestos de la siguiente fórmula IV:



Fórmula IV

en la que W es C = O o SO₂.

15 Z es oxígeno o azufre.

L se selecciona de alquilo¹, arilo¹ o heteroarilo¹ como se define anteriormente.

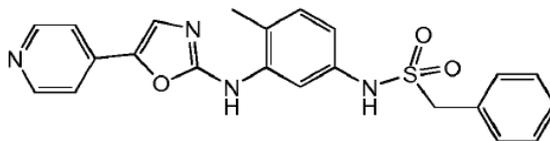
R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ tienen el significado descrito anteriormente.

R₉ se selecciona de hidrógeno, un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 10 átomos de carbono y opcionalmente sustituido con uno o más heteroátomos tal como halógeno (seleccionado entre F, Cl, Br o I), oxígeno y nitrógeno, este último opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básica pendiente; alquiloxi C₁₋₆, amino, hidroxilo.

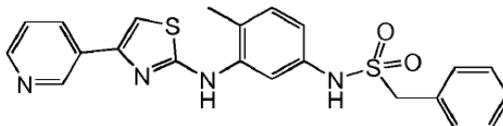
20

Un ejemplo de compuestos preferidos de la fórmula anterior se representa a continuación:

005: N- [4-metil-3- (5-piridin-4-il-oxazol-2-ilamino) -fenil] -C-fenil-metanosulfonamida



006: N- [4-metil-3- (4-piridin-3-il-tiazol-2-ilamino) -fenil] -C-fenil-metano sulfonamida

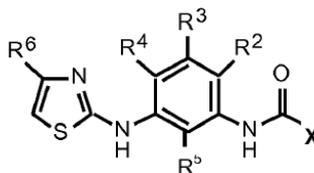


5

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar usando los protocolos generales descritos en las solicitudes anteriores de los inventores WO 2004/014903 y WO 2005/040139.

Entre los compuestos de fórmula I se describen también en este documento los compuestos AB seleccionados a partir de 2-(3-amino)arilamino-4-aril-tiazoles tales como aquellos para los de la solicitud presentada WO 2004/014903, especialmente los compuestos de fórmula V:

10



Fórmula V

en donde X es R o NRR' y donde R y R' se eligen independientemente entre H, un grupo arilo, un heteroarilo, un alquilo, o un grupo cicloalquilo opcionalmente sustituido con al menos un heteroátomo, tal como por ejemplo un halógeno seleccionado entre F, I, Cl y Br y que tiene opcionalmente una funcionalidad de nitrógeno básica pendiente; o un grupo arilo, un heteroarilo, un alquilo o un grupo cicloalquilo sustituido con un grupo arilo, un heteroarilo, un alquilo o un grupo cicloalquilo opcionalmente sustituido con al menos un heteroátomo, tal como por ejemplo O, N, un halógeno seleccionado entre F, I, Cl y Br o que tiene opcionalmente un nitrógeno básico,

15

R² es hidrógeno, halógeno o un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 10 átomos de carbono, trifluorometilo o alcoxi;

20

R³ es hidrógeno, halógeno o un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 10 átomos de carbono, trifluorometilo o alcoxi;

R⁴ es hidrógeno, halógeno o un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 10 átomos de carbono, trifluorometilo o alcoxi;

R⁵ es hidrógeno, halógeno o un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 10 átomos de carbono, trifluorometilo o alcoxi;

25

R⁶ es uno de los siguientes:

30

(i) un grupo arilo tal como fenilo o una variante sustituida del mismo con cualquier combinación, en cualquier posición del anillo, de uno o más sustituyentes tales como halógeno, grupos alquilo que contienen de 1 a 10 átomos de carbono, trifluorometilo y alcoxi;

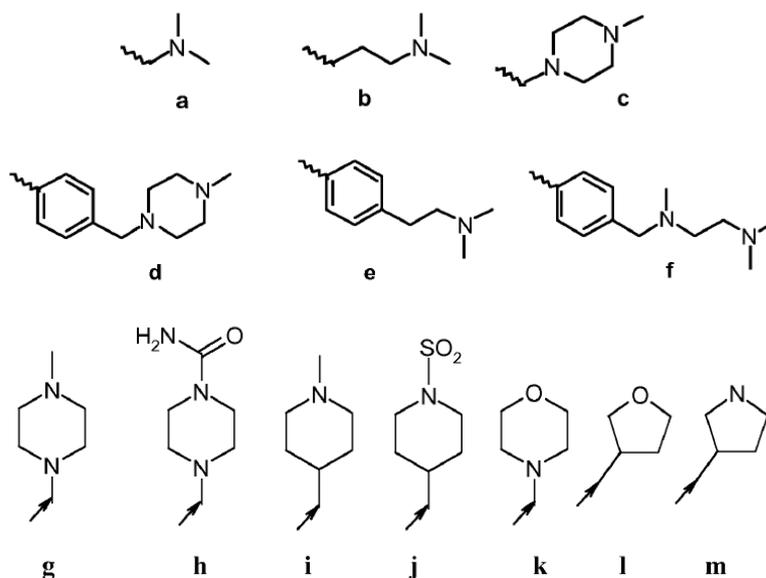
35

(ii) un grupo heteroarilo tal como un grupo 2, 3, o 4-piridilo, que adicionalmente puede llevar cualquier combinación de uno o más sustituyentes tales como halógeno, grupos alquilo que contienen de 1 a 10 átomos de carbono, trifluorometilo y alcoxi;

(iii) un grupo heterocíclico aromático de cinco miembros de anillo, tales como por ejemplo 2-tienilo, 3-tienilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, que adicionalmente puede llevar cualquier combinación de uno o más sustituyentes tales como halógeno, un grupo alquilo que contiene de 1 a 10 átomos de carbono, trifluorometilo y alcoxi.

35

- iv) H, un halógeno seleccionado entre I, F, Cl o Br; NH₂, NO₂ o SO₂-R, donde R es un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene uno o más grupos tales como de 1 a 10 átomos de carbono, y opcionalmente sustituido con al menos un heteroátomo o, en particular un halógeno seleccionado de O, N, I, Cl, Br y F, y/o con una funcionalidad de nitrógeno básica pendiente. Ejemplos del grupo X incluyen las estructuras de a a m que se muestran a continuación, en el que la línea ondulada o flecha corresponde al punto de unión a la estructura central de la fórmula V anterior:



- Entre el grupo A a F, es preferentemente el grupo d. También, de g a m, la flecha puede incluir un punto de unión a la estructura del núcleo a través de un grupo fenilo.

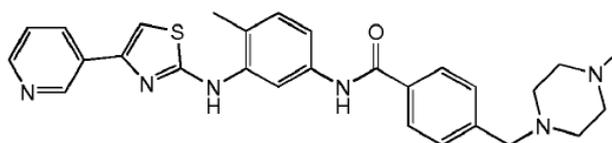
La invención también se refiere al uso de los compuestos de Fórmula II, como se define anteriormente en combinación con al menos un agente antineoplásico como se definió anteriormente para el tratamiento de cánceres sólidos, incluyendo, pero no limitado a, cáncer no microcítico de pulmón, cáncer de páncreas, de vejiga, de mama y cáncer de ovario, como así como cánceres avanzados del tracto biliar, en donde dichos cánceres son resistentes a dicho agente antineoplásico.

La invención también se refiere a un producto o composición farmacéutica para una administración simultánea o secuencial de un inhibidor seleccionado de compuestos de Fórmula II, como se define anteriormente y al menos un agente antineoplásico como se definió anteriormente para el tratamiento de cánceres sólidos, incluyendo, pero no limitado a, cáncer no microcítico de pulmón, cáncer de páncreas, de vejiga, de mama y cáncer de ovario, cáncer del esófago, así como los cánceres de las vías biliares avanzados, en donde dichos cánceres son resistentes a dicho agente antineoplásico.

La invención también se refiere al uso de un inhibidor seleccionado de compuestos de Fórmula II, como se define anteriormente y al menos un agente antineoplásico como se define anteriormente para la preparación de un medicamento para una administración simultánea, separada o secuencial para el tratamiento de cánceres sólidos, incluyendo, pero no limitado a cáncer no microcítico de pulmón, cáncer de páncreas, de vejiga, de mama y cáncer de ovario, cáncer del esófago, así como los cánceres de las vías biliares avanzados, en donde dichos cánceres son resistentes a dicho agente antineoplásico.

La anterior invención contempla especialmente el tratamiento de pacientes aquejados de adenocarcinoma de páncreas no resecable, en particular los resistentes a la gemcitabina sola y protocolos de radioterapia.

- Más específicamente, el compuesto de fórmula II es 4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-tiazol-2-ilamino)-fenil] benzamida (masitinib-AB1010)



En la realización representada más arriba, el producto de combinación puede ser diseñado o especificado de modo que un compuesto de Fórmula II se administra antes de al menos un dicho agente neoplásico.

Las composiciones farmacéuticas utilizadas en esta invención pueden administrarse por cualquier número de vías incluyendo, pero no limitado a, medios oral, intravenoso, intramuscular, intra-arterial, intramedular, intratecal, intraventricular, transdérmico, subcutáneo, intraperitoneal, intranasal, enteral, sublingual, o rectal.

5 Además de los ingredientes activos, estas composiciones farmacéuticas pueden contener vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. Para más detalles sobre las técnicas para la formulación y administración pueden encontrarse en la última edición de Remington Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing Co., Easton, Pa.).

10 Las composiciones farmacéuticas para administración oral pueden formularse usando vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica en dosificaciones adecuadas para la administración oral. Tales vehículos permiten que las composiciones farmacéuticas se formulen como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones, y similares, para la ingestión por el paciente.

15 Más particularmente, la invención se refiere a una composición farmacéutica destinada para la administración oral. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en la invención incluyen composiciones en las que están contenidos compuestos que agotan los mastocitos, tales como los inhibidores de c-kit, o compuestos que inhiben la desgranulación de los mastocitos en una cantidad eficaz para conseguir el objetivo pretendido. La determinación de una dosis eficaz está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica. Una dosis terapéuticamente eficaz se refiere a aquella cantidad de ingrediente activo, que mejora los síntomas o condiciones. La eficacia terapéutica y la toxicidad pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, ED50 (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población) y LD50 (la dosis letal para el 50% de la población). La relación de dosis de efectos tóxicos a terapéuticos es el índice terapéutico, y puede expresarse como la relación LD50/ED50. Se prefieren las composiciones farmacéuticas que muestran grandes índices terapéuticos.

20 Por ejemplo, los pacientes anteriores pueden recibir una administración diaria o semanal de 40 mg a 800 mg de compuesto AB de fórmula I, II, III, IV o V como se define anteriormente, por ejemplo 40 mg, 100 mg, 200 mg, o incluso 400 mg o 800 mg, dependiendo del peso del paciente. Esto es seguido por la administración de al menos un compuesto antineoplásico.

En este sentido, la gemcitabina se puede administrar por infusión intravenosa a una dosis de por ejemplo 1000 mg/m² durante 30 minutos una vez por semana (hasta 7 semanas).

30 Los ciclos posteriores deben consistir en infusiones una vez por semana durante 3 semanas consecutivas de cada 4 semanas.

35 Además, la terapia combinada anterior puede incluir además la administración de carboplatino para el tratamiento de pacientes con cáncer de ovario avanzado que han recaído al menos 6 meses después de la finalización de la terapia basada en platino. En el cáncer de mama, la terapia combinada anterior puede incluir además la administración de paclitaxel. En el cáncer de pulmón de células no pequeñas, puede ser administrado cisplatino adicional como tratamiento de primera línea de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas inoperable, localmente avanzado (estadio IIIA o IIIB) o metastásico (estadio IV).

Alternativamente, el docetaxel en, por ejemplo, 75 mg/m²/diario puede administrarse después de la administración del compuesto AB de fórmula I, II, III, IV o V como se define anteriormente.

40 Ejemplo 1: Actividad de los compuestos AB

45 La acción de los compuestos AB en la inhibición de la actividad de c-kit de la tirosina quinasa se ha demostrado en un ensayo ELISA utilizando el dominio purificado intracelular soluble (567-976) de c-kit expresado en baculovirus midiendo la fosforilación de una diana de péptido que contiene un grupo tirosina. Los compuestos AB inhibieron la actividad enzimática potentemente con una IC50 no pequeñas, puede ser administrado cisplatino adicional como tratamiento de primera línea de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas inoperable, localmente avanzado (estadio IIIA o IIIB) o metastásico (estadio IV).

Los compuestos AB son inhibidores potentes y selectivos de c-kit y también inhiben PDGF-R in vivo a IC50 por debajo de 1 mM.

Tabla I

Enzima	IC50 [μM]	Línea celular	IC50 [μM]
c-Kit	debajo de 0,1	Ba/F3 Kit	0,1 <IC50 <1
PDGF-beta	debajo de 1	Ba/F3 PDGFR	0,1 <IC50 <1
FGFR3		LP1, NC1, OPM2	<2

Enzima	IC50 [μ M]	Línea celular	IC50 [μ M]
ABL1	debajo del 10	Ba/F3 p210bcr-Abl	IC50> 1
VEGFR1	IC50> 100	Ba/F3 IL3	IC50> 1
EGFR	IC50> 100	Ba/F3 EGFR	IC50> 1
FGFR1	IC50> 100	Ba/F3 RET	IC50> 1
FLT3	IC50> 100	Ba/F3 TRKB	IC50> 1
JAK2	IC50> 100	Ba/F3 FGFR1	IC50> 1
AKT1	debajo de 100	Ba/F3 FGFR3	IC50> 1
PKC-alfa	aproximadamente 100	Ba/F3 FLT3 WT	IC50> 1
SRC	IC50> 100	Ba/F3 FLT3 ITD	IC50> 1
IGF1R	IC50> 100	Ba/F3-Tel JAK1	IC50> 1
PIM1	debajo del 50	Ba/F3-Tel JAK2	IC50> 1
		Ba/F3-Tel JAK3	IC50> 1

Los compuestos AB inhiben la proliferación de células que expresan mutaciones JM de c-kit con una IC50 de menos de 0,1 μ M. La ausencia de citotoxicidad no específica se demostró a través de la proliferación de poblaciones de linfocitos T humanos, y de la línea celular Ba/F3 en presencia de IL-3. La capacidad de los compuestos AB para inducir la apoptosis se demostró en una línea celular de mastocitos humana que expresa el c-kit JM Δ 27 mutado. En este experimento, después de 48 horas, AB1010 0,1 μ M indujo la apoptosis de aproximadamente 50% frente a las células de control en la que el 10% de las células fueron apoptóticas. Además, una línea celular independiente (Ba/F3-derivado) que expresa JM Δ 27 fue probada y se indujo la apoptosis a un nivel de aproximadamente 85%.

Ejemplo 2: El uso de compuestos AB para el tratamiento de cáncer de páncreas combinado con gemcitabina

2.1 Medicamentos y productos químicos:

2.1.1 Masitinib

1. Nombre: AB1010
2. Fórmula molecular: $C_{28}H_{30}N_6OS \cdot CH_4O_3S$
3. Proveedor: Archemis
4. Número de lote: RAN0328
5. Descripción: recibido como un polvo blanco
6. Solución madre: 20 mM en DMSO
7. Condiciones de almacenamiento: + 4°C como polvo protegido de la luz -80°C como una solución en DMSO

2.1.2 Agentes citotóxicos:

La gemcitabina (2',2',-difluoro-2',-desoxicitidina) era de Eli Lilly y es un análogo de nucleósido de desoxicitidina que interfiere con la síntesis de ADN.

Los otros agentes se adquirieron de Sigma Aldrich Corporation y son venenos de microtúbulos (Paclitaxel o Taxol y Docetaxel o Taxotere), anti-topoisomerasa I (irinotecán o CPT-11).

2.2. Cultivo celular

Líneas celulares de cáncer de páncreas, colon y próstata (generoso regalo del Dr. Juan Iovanna, INSERM U624, Marsella, Francia), las líneas celulares de cáncer de mama y ovario (generoso regalo del Dr. Patrice Dubreuil, UMR 599 INSERM, Marsella, Francia), y la línea celular de cáncer de pulmón (generoso regalo de Pr. Christian Auclair, UMR 8113 CNRS) se cultivaron como monocapas en medio RPMI 1640 que contiene L-glutamina suplementado con 100 U/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomycin, y suero fetal de ternera al 10% v/v inactivado con calor (Abcys Lote S02823S1800) bajo condiciones de cultivo estándar (5% CO₂, 95% de aire en la cámara húmeda a 37°C).

Durante el ensayo de proliferación, se cultivaron todas las células en medio que contenía 1% de FCS.

2.3 Diseño experimental

Ensayo de proliferación celular colorimétrico y de viabilidad (reactivo WST-1 adquirido de Roche N° cat. 1644807)

Las células se lavaron una vez y se resuspendieron en RPMI 1% de FCS. Las células a $1 \times 10^4/50 \mu\text{l}$ se colocaron en placas por pocillo de una placa de 96 pocillos.

- 5 Se prepararon diluciones de fármaco en una placa de 96 pocillos y se obtuvieron mediante diluciones secuenciales de AB1010 o gemcitabina en RPMI 1.

El tratamiento se inició mediante la adición de $50 \mu\text{l}$ de una solución de fármaco concentrada 2 x a un volumen final de $100 \mu\text{l}$.

- 10 Para el tratamiento con la combinación de AB1010 y gemcitabina, las células se resuspendieron primero en medio RPMI 1% FCS que contenía AB1010 a las concentraciones de 0, 2, 5 y 10 mM. 1×10^4 células/ $50 \mu\text{l}$ se colocaron en placas por pocillo de una placa de 96 pocillos y las placas se colocaron en la incubadora antes del tratamiento con agentes citotóxicos. El tratamiento con el agente citotóxico se inició por la adición de $50 \mu\text{l}$ de una dilución de fármaco 2 x (y que contiene la respectiva concentración de fármaco AB1010) hasta un volumen final de 100 microlitros. Las concentraciones finales de AB1010 permanecieron 0, 2, 5 y 10 μM . Después de incubar durante 48-
15 72 horas a 37°C , se añadieron $10 \mu\text{l}$ de una dilución 1/2 de reactivo WST-1 a cada pocillo y las placas se devolvieron a la incubadora durante 4 horas más. La absorbancia de las muestras se midió a 490 nm usando un lector de microplacas EL800 universal (Bio-Tek Instruments Inc.).

Un control de fondo sin células fue utilizado como un blanco para el lector ELISA.

- 20 El control positivo del ensayo corresponde a la proliferación de células obtenida en ausencia del tratamiento con fármaco (100% de proliferación).

Cada muestra se hizo por duplicado, los valores de absorbancia se transfirieron a un archivo de Excel, el promedio y la desviación estándar de los duplicados se calculó y se expresó como porcentaje de la proliferación obtenida en ausencia de tratamiento.

2.3. Resultados:

- 25 Con el fin de evaluar los beneficios de usar AB1010 en terapia de combinación para el tratamiento del cáncer, se realizaron estudios preclínicos que implicaban líneas de células tumorales. El proyecto consistió en probar la capacidad del AB1010 para sensibilizar a las líneas de células tumorales frente a los agentes citotóxicos utilizando ensayos de proliferación in vitro. Se estudiaron al principio las líneas de células tumorales pancreáticas que exhibieron una fuerte resistencia al agente citotóxico gemcitabina (tratamiento estándar en el cáncer de páncreas).

- 30 3.1 El AB1010 sensibiliza a las líneas celulares de cáncer pancreático frente a la gemcitabina

Para determinar la concentración de IC50 de gemcitabina en líneas de células pancreáticas, las células se cultivaron en 1% de FCS y se expusieron a diferentes dosis de la droga.

- 35 La figura 1 ilustra la falta de sensibilidad frente a la gemcitabina de Mia Paca-2 y Panc-1 (como se describe anteriormente por Giroux et al. 2006), mientras que la proliferación de líneas celulares sensibles de Capan-2 y BxPC-3 se inhibe de manera eficiente con una $IC_{50} = 2 - 20 \text{ nM}$.

Para determinar la concentración de IC50 de gemcitabina utilizada en asociación con AB1010, las líneas celulares pancreáticas cultivadas en FCS al 1% se trataron previamente con AB1010 durante aproximadamente 12-16 horas antes de ser expuestas a diferentes dosis de la gemcitabina.

- 40 La figura 2 muestra claramente que el pretratamiento con AB1010 (5 y 10 μM) invierte la resistencia de las líneas celulares de tumor de páncreas frente a gemcitabina, mientras que la sensibilidad de las otras líneas celulares se mantiene sin cambios (Tabla 1).

Tabla 1: AB1010 sensibiliza MiaPaca-2 y Panc-1 frente a la gemcitabina

IC50 μM	AB1010	Gemcitabina μM	Gemcitabina + AB1010		Factor de sensibilización
			5 μM	10 μM	
MiaPaca-2	10	>10	1,5	0,025	400
Panc-1	>10	>10	8	1	10
BxPC-3	>10	0,1-1	0,1-1	0,1-1	0
Capan-2	2	0,1-1	0,5-1	ND	0

El efecto de sensibilización de AB1010 no se observa en las líneas de células de Capan-2 y BxPC-3 sensibles a la gemcitabina, probablemente debido al fuerte efecto anti-proliferativo de gemcitabina en estas líneas celulares. Además, la secuencia del tratamiento del fármaco es importante, ya que el tratamiento previo de las células primero con gemcitabina antes de exponerlas a AB1010 no da lugar a una disminución de la IC50 de gemcitabina. Esta observación sugiere que el tratamiento previo con AB1010 puede alterar las células de una manera que las hace más susceptibles a un tratamiento adicional con gemcitabina.

3.2 AB1010 sensibiliza diversos tipos de células del cáncer frente a la gemcitabina

- 10 Con el fin de evaluar la capacidad de AB1010 para sensibilizar a otros tipos de tumores frente a la gemcitabina, se realizaron estudios similares en líneas de células tumorales de próstata, de pulmón, de ovario y de colon. Los resultados de estos estudios se resumen en las siguientes tablas.

Tabla 2. AB1010 sensibiliza a las líneas celulares DU145 próstata de y C4-2 frente a la gemcitabina

IC50 μM	AB1010 μM	Gemcitabina μM	Gemcitabina + AB1010	Factor de sensibilización
DU145	>20	100	10	10
C4-2	15	20	1	20
LnCAP	15	10	5-10	0
PC-3	8	10	10	0

- 15 Tabla 3. AB1010 sensibiliza a las líneas celulares A549 de pulmón y H1299 frente a gemcitabina

IC50 μM	AB1010 μM	Gemcitabina μM	Gemcitabina + AB1010	Factor de sensibilización
A549	8	>100	10	10
H1299	10	>100	10-50	de 2 a 10
H1650	7,5	1-5	5	0
H1975	9	1-5	5	0

Tabla 4. AB1010 sensibiliza a las líneas celulares HRT-18 de recto, y Caco-2 de colon y SW-480 frente a gemcitabina

IC50 μ M	AB1010	Gemcitabina	Gemcitabina +	Factor de sensibilización
Líneas celulares	μ M	μ M	AB1010	
Caco-2	7,5	>100	25-50	de 2 a 4
HRT-18	>10	>100	5-10	de 10 a 20
SW-480	5	20	5-10	de 2 a 4
HT-29	5	>100	>100	0
LS-174T	7,8	5-10	5-10	0

Tabla 5: AB1010 sensibiliza a las líneas de células de OVCAR-3 de ovario de gemcitabina

IC50 μ M	AB1010	Gemcitabina	Gemcitabina +	Factor de sensibilización
Líneas celulares	μ M	μ M	AB1010	
OVCAR-3	10	50	10-20	de 2,5 a 5
O170	7,5	1	1	0
OV90	7,5	5-10	5-10	0
TOV-112D	7,5	5	5	0
TOV-21G	10	10	10	0

5

Se encontró que el AB1010 restaura en diversos grados la sensibilidad a la gemcitabina de todas las líneas celulares de cáncer resistentes excepto una (HT-29 de colon), incluyendo el de próstata (Tabla 2), de células no pequeñas de pulmón (tabla 3) colorrectal (tabla 4) y líneas celulares de ovario (tabla 5). Cuando las células exhiben sensibilidad frente a la gemcitabina, AB1010 no baja el IC50 de gemcitabina a pesar de que todavía podría potenciar el efecto citotóxico de gemcitabina mediante la inducción de cerca del 100% de inhibición a dosis más baja de gemcitabina comparado con la gemcitabina sola (Fig. 3).

10

3.3 AB1010 sensibiliza a las líneas celulares de cáncer frente a quimioterapias estándar

3.3.1 AB1010 sensibiliza de líneas celulares de tumor de mama y ovarios frente a taxanos

A continuación se analizó la capacidad de AB1010 para sensibilizar a las líneas celulares de tumores de ovario y mama frente a la acción de los agentes antimetabólicos docetaxel o paclitaxel (quimioterapias de referencia para las patologías). El resumen de los resultados se muestra en la Tabla 6 y 7.

15

Tabla 6: AB1010 sensibiliza a las líneas de células tumorales de mama frente a docetaxel

IC50 μM	AB1010	Docetaxel	Docetaxel	Factor de sensibilización
Líneas celulares	μM	μM	+AB1010 (10 μM)	
SUM185	6,5	>10	0,05	200
HCC1937	7,5	>10	1	10
BT483	8	>10	1	10
MDAMB134	>10	>10	0,01	1000
BT474	4	10	0,5	20
SB8	6,5	>1	0,06	20
SUM190	10	>10	>10	0
MCF-7	>10	>1	5	0
A431	6,5	10	10	0
HCC1500	9	10	10	0
184BS	>10	10	10	0
BRCAMZ-01	>10	0,02	0,03	0

Sorprendentemente la mayoría de las líneas celulares de cáncer de mama ensayadas muestran resistencia frente a docetaxel. Se observó una buena sensibilización por AB1010 para 6 de cada 11 de estas líneas celulares resistentes.

5

Tabla 7: AB1010 sensibiliza a las líneas de células tumorales de ovario resistentes a paclitaxel

IC50 μM	AB1010	Paclitaxel	Paclitaxel +	Factor de sensibilización
Líneas celulares	μM	μM	AB1010	
OV90	7,5	>10	7,5	1.5
OVCAR3	10	>10	0,1 meseta	100
O170	7,5	<0,1	<0,1	0
TOV112D	7,5	<0,1	<0,1	0
TOV21G	10	0,1	0,1	0

Tres de las cinco líneas de células de ovario ensayadas exhiben una fuerte sensibilidad frente al agente quimioterapéutico estándar Paclitaxel. Curiosamente, AB1010 restaura la sensibilidad frente a paclitaxel de líneas de células tumorales resistentes.

10

3.3.2 AB1010 sensibiliza a las líneas celulares tumorales de colon frente a irinotecan (CPT-11)

A continuación se probó la capacidad de AB1010 para sensibilizar a las líneas celulares de tumor colorrectal resistentes a la acción de anti-topoisomerasa I irinotecan (CPT-11) (quimioterapia de referencia para las patologías). El resumen de los resultados se muestra en la Tabla 8.

15

Tabla 8: AB1010 sensibiliza a las líneas celulares de colon y recto frente a irinotecan

IC50 μM	AB1010	Irinotecan	Irinotecan +	Factor de sensibilización
Líneas celulares	μM	μM	AB1010	
HRT-18	>10	>100	30	3
SW-480	5	40	15	2,5
HT-29	5	50	50	0
Caco-2	7,5	65	50	0
LS-174T	7,8	20	20	0

Se observa una buena sensibilización por AB1010 para las líneas de células más resistentes HRT-18.

5 3.4 AB1010 pero no STI571 sensibiliza a las líneas celulares de cáncer Mia Paca-2 de páncreas frente a la gemcitabina

El mismo tipo de experimentos que se describe anteriormente se llevó a cabo comparando AB1010 y el pretratamiento de STI-571 sobre la respuesta de la línea de células tumorales MiaPaca-2 frente a la gemcitabina.

10 Como se muestra en la figura 4, el pre-tratamiento de las células con STI571 no sensibiliza MiaPaca-2 frente a la gemcitabina. La Tabla 9 resume la IC50 de los fármacos utilizados individualmente o en combinación en la línea celular MiaPaca-2.

Tabla 9: Comparación de AB1010 y STI571 en la sensibilización de MiaPaca-2 frente a gemcitabina (Gem)

IC50 μM	Gem	STI571 10 μM	Gem + STI571 10 μM	AB1010 10 μM	Gem +	
					1010 5 μM	1010 10 μM
MiaPaca-2	>10	>10	>10	7	1,5	0,2

El efecto de sensibilización frente a la gemcitabina parece ser específico para AB1010 ya que el tratamiento previo con STI571 no conduce al mismo resultado (incluso a 10 μM).

15 3.5 AB1010 puede sensibilizar a las líneas celulares de cáncer mediante la inhibición de la ruta de señalización de SRC-FAK

20 Con el fin de identificar las dianas de AB1010 en este proceso, se analizó la expresión de RTK por RT-PCR en las líneas de células pancreáticas (datos no mostrados). No se encontró ninguna cantidad detectable de c-kit, lo que sugiere que el c-Kit podría no ser la diana principal. PDGFR β se expresó en BxPC3, MiaPaca-2 y en un grado menor en Panc-1, mientras que EGFR fue altamente expresado en todas las líneas celulares (datos no mostrados). Por lo tanto, no existe una clara correlación entre la expresión de las principales dianas de AB1010 y la respuesta al tratamiento de combinación de AB1010 + gemcitabina.

25 Las líneas de células pancreáticas tumorales se describen que expresan un alto nivel de la tirosina quinasa FAK no receptor que contribuye a la resistencia a la gemcitabina. De hecho, el bloqueo de la expresión de FAK usando siRNA se ha demostrado que potencia la citotoxicidad inducida por gemcitabina in vitro e in vivo (Duxbury et al. 2003, 2004). Ahora se disponen de datos preliminares que demuestran que AB1010 es capaz de bloquear parcialmente la actividad de FAK (Fig. 3). Estos datos son apoyados por los resultados obtenidos en un SelectScreen quinasa perfiles de AB1010 llevado a cabo para los inventores por la Compañía Invitrogen. En esta selección, la actividad inhibidora de AB1010 utilizada a 1 μM se ensayó en un panel de 205 quinazas purificadas, lo que muestra una inhibición del 21% de la actividad de quinasa FAK. Por el uso de cualquiera de los anticuerpos anti PY o anti-fosfo FAK, se estudió mediante un ensayo de transferencia de Western el estado de activación de FAK quinasa. Se confirmó que AB1010 inhibe parcialmente la autoactivación de FAK (Fig. 3B). Estos datos sugieren que
30 AB1010 puede sensibilizar a las líneas de células tumorales pancreáticas frente a gemcitabina a través de su inhibición de la FAK quinasa.

Dado que la expresión de FAK elevada ha sido reportada en otros tipos de tumores incluyendo cáncer de próstata, colon y ovario, se propone un mecanismo general de sensibilización de AB1010 frente al agente citotóxico a través de la inhibición de FAK.

Inhibidor de quinasa	Gleevec® (1.000 nm)	PP2 (1,000 nM)	AB1010 (1,000 nM)
Porcentaje de inhibición	9%	75%	21%

2.4 - Discusión

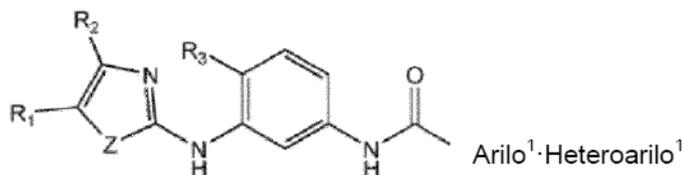
5 Este estudio es el primer informe que muestra in vitro que un inhibidor selectivo de c-Kit/PDGFR α & β , AB1010 es capaz de restaurar la sensibilidad de líneas de células tumorales pancreáticas resistentes al agente citotóxico gemcitabina. La sensibilización sistemática de líneas de células cancerosas resistentes a la gemcitabina por AB1010 es bastante sorprendente. Por otra parte, se ha observado sensibilización a quimioterapias convencionales tales como taxanos de las líneas celulares de cáncer de mama y ovario y la anti-topoisomerasa I irinotecán para las líneas
 10 celulares de cáncer colorrectal, a pesar de que los efectos sinérgicos no eran tan fuertes. En base a los datos sobre la FAK quinasa, los inventores piensan que AB1010 puede sensibilizar líneas celulares parcialmente mediante el bloqueo de la vía de señalización de FAK-SRC lo que conduce a la pérdida de propiedades de adhesión, ya que se pudo observar en el experimento de la invención.

15 Los inventores son conscientes de que este estudio se ha realizado sobre un número limitado de líneas celulares que no necesariamente reflejan la complejidad del tumor in vivo. Sin embargo, los resultados in vivo de ensayos clínicos de fase II en curso realizados en pacientes con cáncer de páncreas que reciben una combinación de AB1010 + gemcitabina parecen validar este enfoque.

20 Juntos, los resultados in vivo e in vitro sugieren que AB1010 tiene un gran potencial en la terapia de combinación con gemcitabina, así como con quimioterapias estándar para el tratamiento de cánceres tales como el cáncer de páncreas, de próstata, pulmón de células no pequeñas, cáncer de mama y de ovario. AB1010 podría ser particularmente potente en los casos de cánceres que recaen después de una primera línea de tratamiento y que por lo general se consideran como tumores quimioresistentes.

REIVINDICACIONES

1. Un 2-aminoariltiazol o 2-aminoariloxazol de fórmula II:



en donde los sustituyentes Z y R1-R3 en la Fórmula II son definidos como sigue:

5 Z es oxígeno o azufre,

R1 y R2 se seleccionan de:

i) hidrógeno, F, Cl, Br, I,

ii) un grupo alquilo¹ definido como un grupo lineal, ramificado o cicloalquilo que contiene de 1 a 10 átomos de carbono y opcionalmente sustituido con uno o más heteroátomos seleccionados de F, Cl, Br, I, oxígeno, y nitrógeno, el último opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básica pendiente; así como trifluorometilo, carboxilo, ciano, nitro, formilo; así como CO-R, COO-R, CONH-R, SO₂-R, y SO₂NH-R en donde R es un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 10 átomos de carbono y opcionalmente sustituido con al menos un heteroátomo seleccionado de F, Cl, Br, I, oxígeno, y nitrógeno, el último opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básica pendiente; así como un grupo cicloalquilo o arilo¹ o heteroarilo¹ opcionalmente sustituido por una funcionalidad de nitrógeno básica pendiente, o

iii) un grupo arilo¹ definido como fenilo o una variante sustituida del mismo que lleva cualquier combinación, en cualquier posición de anillo, de uno o más sustituyentes seleccionados de:

I, F, Cl, o Br;

un grupo alquilo¹;

20 un grupo cicloalquilo, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido por una funcionalidad de nitrógeno básica pendiente;

trifluorometilo, O-alquilo¹, carboxilo, ciano, nitro, formilo, hidroxilo, NH-alquilo¹, N(alquilo¹)(alquilo¹), y amino, los últimos sustituyentes de nitrógeno opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básica;

25 NHCO-R o NHCOO-R o NHCONH-R o NHSO₂-R o NHSO₂NH-R o CO-R o COO-R o CONH-R o SO₂-R o SO₂NH-R o C(NO₂)NH₂, C(N)NH₂ en donde R corresponde a hidrógeno, alquilo¹, arilo¹ o heteroarilo¹, o

iv) un grupo heteroarilo¹ definido como un grupo piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, tienilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, pirrolilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, indolilo, benzimidazol, benzoxazol, benzotiazol, grupo quinolinilo, que adicionalmente puede llevar cualquier combinación, en cualquier posición del anillo, de uno o más sustituyentes seleccionados de F, Cl, Br, I;

30 un grupo alquilo¹;

un grupo cicloalquilo, arilo o heteroarilo sustituido opcionalmente por una funcionalidad de nitrógeno básico pendiente; trifluorometilo, O-alquilo¹, carboxilo, ciano, nitro, formilo, hidroxilo, NH-alquilo¹, N(alquilo¹)(alquilo¹) y amino, estos últimos sustituyentes del nitrógeno opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básico;

35 NHCO-R o NHCOO-R o NHCONH-R o NHSO₂-R o NHSO₂NH-R o CO-R o COO-R o CONH-R o SO₂-R o SO₂NH-R en donde R corresponde a hidrógeno, alquilo¹,

o

v) un grupo O-arilo¹, o NH-arilo¹, u O-heteroarilo¹ o NH-heteroarilo¹

40 vi) trifluorometilo, O-alquilo¹, carboxilo, ciano, nitro, formilo, hidroxilo, NH-alquilo¹, N(alquilo¹)(alquilo¹) y amino, estos últimos sustituyentes del nitrógeno opcionalmente en forma de una funcionalidad de nitrógeno básico, o

vii) NHCO-R o NHCOO-R o NHCONH-R o NHSO₂-R o NHSO₂NH-R o CO-R o COO-R o CONH-R o SO₂-R o SO₂NH-R en la que R corresponde a hidrógeno, alquilo¹, arilo¹ o heteroarilo¹

- R3 se selecciona de hidrógeno, F, Cl, Br, I, un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 10 átomos de carbono y opcionalmente sustituido con uno o más heteroátomos seleccionados de F, Cl, Br, I, oxígeno, y nitrógeno, el último opcionalmente en la forma de una funcionalidad de nitrógeno básica pendiente; así como trifluorometilo, alquiloxi C1-6, amino, alquilamino C1-6, di(alquilo C1-6)amino, carboxilo, ciano, nitro, formilo, hidroxilo, y COR, COO-R, CONHR, SO₂-R, y SO₂NH-R en donde R corresponde a hidrógeno, alquilo¹, arilo o heteroarilo,
- 5 y al menos un agente antineoplásico seleccionado del grupo que comprende gemcitabina, docetaxel, paclitaxel, irinotecan, doxorubicin, 5-fluorouracil, vincristina, etoposido, lomustina, dacarbazina, cisplatino y carboplatino, para uso en el tratamiento de un cáncer sólido resistente a dicho al menos un agente antineoplásico, en pacientes en necesidad de dicho tratamiento.
- 10 2. El 2-aminoariltiazol o 2-aminoariloxazol de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en el tratamiento del cáncer no microcítico de pulmón, cáncer de páncreas, de vejiga, de mama y cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer del esófago, cáncer colorectal y los cánceres de las vías biliares avanzados.
3. El 2-aminoariltiazol o 2-aminoariloxazol para uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 2, en donde dicho 2-aminoariltiazol es 4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-tiazol-2-ilamino)-fenil]-benzamida
 15 (Masitinib-AB1010).
4. Una composición farmacéutica para una administración simultánea o secuencial del 2-aminoariltiazol o 2-aminoariloxazol como se define en la reivindicación 1, especialmente el compuesto de la reivindicación 3, y al menos un agente antineoplásico seleccionado del grupo que comprende gemcitabina, docetaxel, paclitaxel, irinotecan, doxorubicin, 5-fluorouracil, vincristina, etoposido, lomustina, dacarbazina, cisplatino y carboplatino para uso en el
 20 tratamiento de un cáncer sólido resistente a dicho al menos un agente antineoplásico; incluyendo, pero sin limitación, cáncer no microcítico de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga, cáncer de mama y cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer del esófago, cáncer colorectal y los cánceres de las vías biliares avanzados.
5. Un medicamento para una administración simultánea, separada o secuencial del 2-aminoariltiazol o 2-aminoariloxazol como se definen en la reivindicación 1, especialmente el compuesto de la reivindicación 3, y al menos un agente antineoplásico seleccionado del grupo que comprende gemcitabina, docetaxel, paclitaxel, irinotecan, doxorubicin, 5-fluorouracil, vincristina, etoposido, lomustina, dacarbazina, cisplatino and carboplatino para uso en el tratamiento de un cáncer sólido resistente a dicho al menos uno agente antineoplásico; incluyendo, pero
 25 sin limitación, cáncer no microcítico de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga, cáncer de mama y cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer del esófago, cáncer colorectal y los cánceres de las vías biliares avanzados.
- 30 6. El 2-aminoariltiazol o 2-aminoariloxazol para uso de acuerdo con la reivindicación 1, especialmente el compuesto de la reivindicación 3, en el que dicho agente antineoplásico es gemcitabina y dichos pacientes están aquejados con adenocarcinoma pancreático no extirpable.

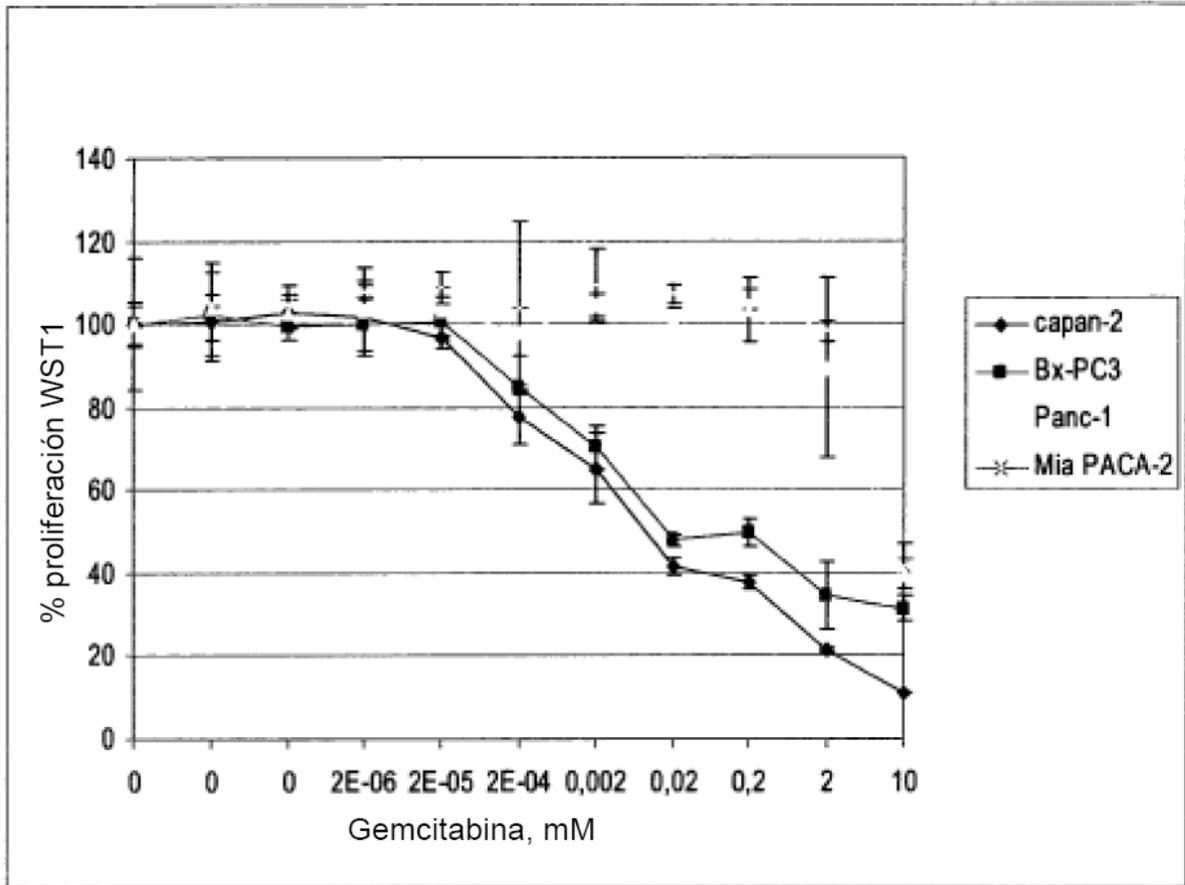


FIGURA 1

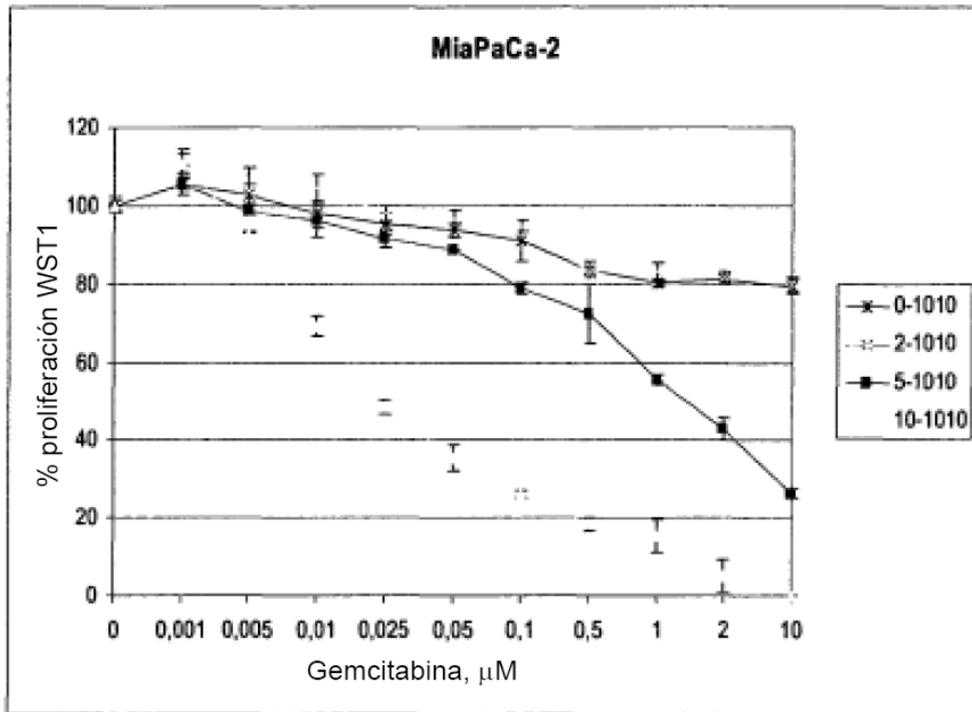


FIGURA 2A

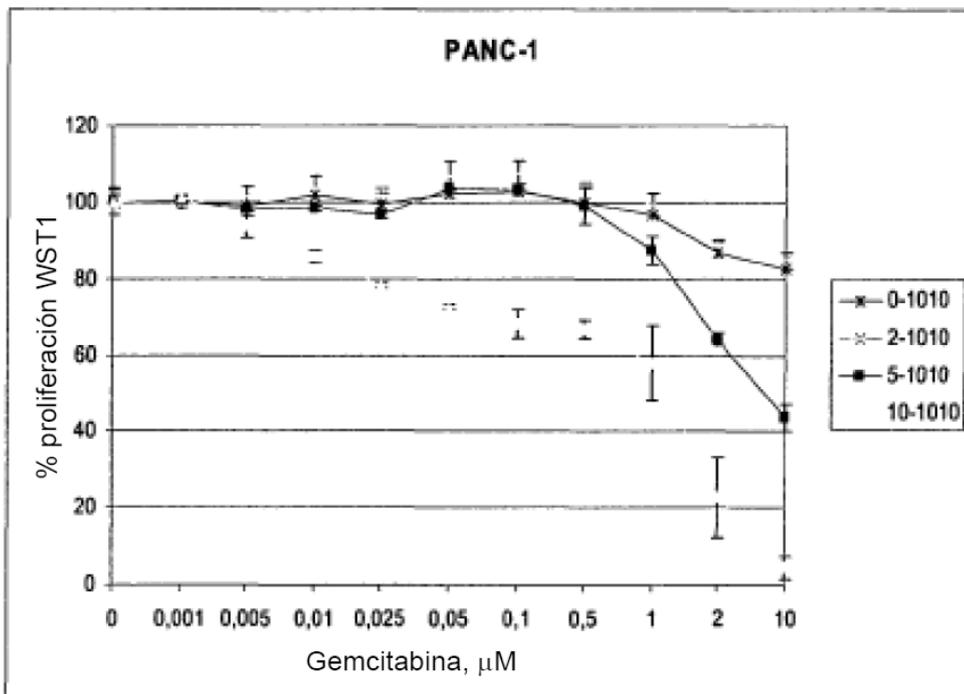


FIGURA 2B

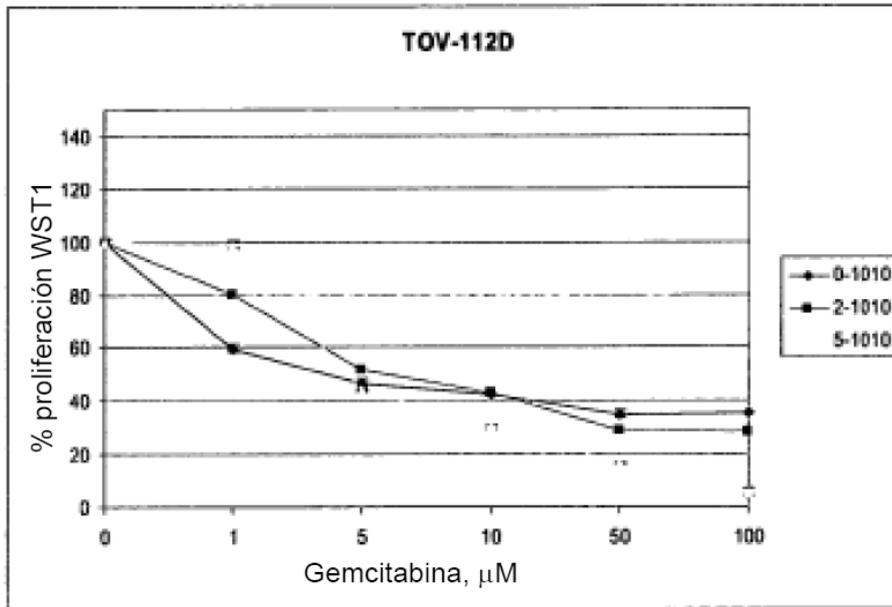


FIGURA 3A

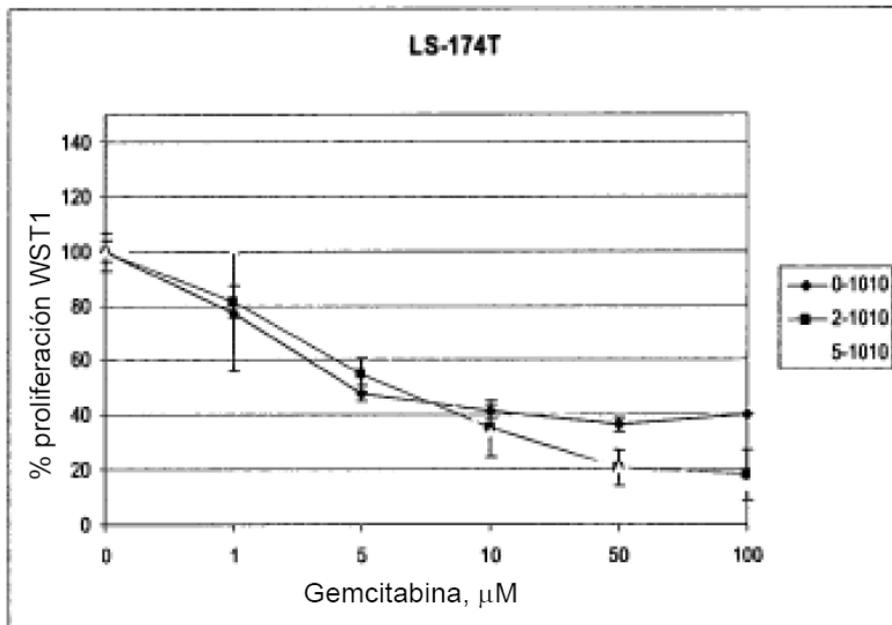


FIGURA 3B

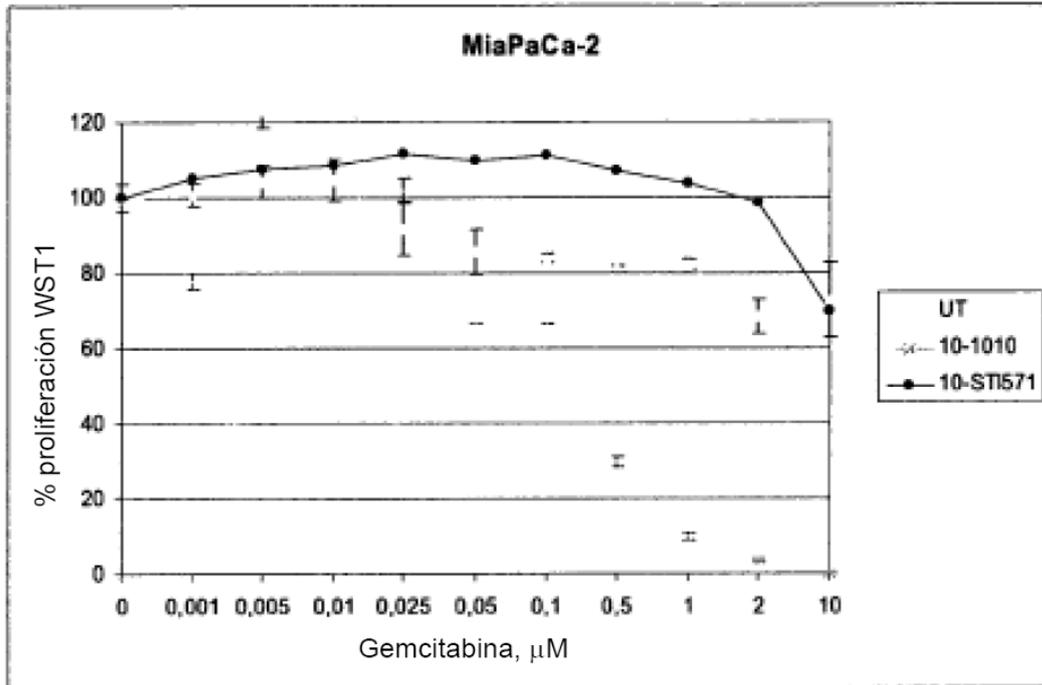


FIGURA 4



FIGURA 5