

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 689**

51 Int. Cl.:

A61K 31/282 (2006.01) **A61K 31/4965** (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01) **A61K 31/506** (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61K 33/24 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/4412 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.05.2010 PCT/EP2010/057027**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.12.2010 WO2010136394**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.05.2010 E 10723967 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016 EP 2435041**

54 Título: **Combinación terapéutica que comprende un inhibidor de PLK1 y un agente antineoplásico**

30 Prioridad:

26.05.2009 EP 09161111

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

19.06.2017

73 Titular/es:

**NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L. (100.0%)
11 Viale Pasteur, 10 P.O. Box 11
20014 Nerviano (MI), IT**

72 Inventor/es:

**VALSASINA, BARBARA;
BERIA, ITALO;
CIAVOLELLA, ANTONELLA;
BALLINARI, DARIO;
PESENTI, ENRICO y
MOLL, JUERGEN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 617 689 T3

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

DESCRIPCIÓN

Combinación terapéutica que comprende un inhibidor de PLK1 y un agente antineoplásico

5 La presente invención se refiere en general al campo del tratamiento del cáncer y, más particularmente, proporciona una combinación anti-tumoral que comprende un inhibidor de PLK1 y uno o varios agentes antineoplásicos, dotados de un buen efecto antineoplásico.

10 Los cánceres son una causa importante de muerte en humanos; la cirugía, la radiación y la quimioterapia son medidas útiles para combatirlos. En particular, la quimioterapia combinada, diseñada para tratar el cáncer usando más de un fármaco en combinación o asociación, es una modalidad bien aceptada de tratamiento de las enfermedades neoplásicas, como el cáncer. Se han dedicado y aún se dedican muchos esfuerzos a seleccionar combinaciones antitumorales cada vez más activas y seguras para administrar a pacientes aquejados de cáncer. El incremento de la eficacia antitumoral de un compuesto antitumoral conocido al administrar el mismo en combinación con uno o varios fármacos antitumorales diferentes para reducir los efectos tóxicos de los agentes individuales usados solos, y en muchos casos porque la combinación tiene mayor eficacia que cuando se usa el agente solo, es una necesidad acuciante en el campo de la terapia anticáncer.

20 La expresión de PLK1 se observa en todos los tejidos proliferativos normales, mientras que se observa sobreexpresión en una serie de tumores, incluyendo el de mama, próstata, ovario, pulmón, los cánceres gástricos y de colon. Al disminuir PLK1 en la célula cancerígena mediante el ARNi, se observa la inhibición de la proliferación y la reducción de la viabilidad dando como resultado el paro del ciclo celular con contenido de ADN 4 N seguido de apoptosis. Aunque se describen cuatro miembros diferentes de la familia de PLKs en humanos, la inhibición de la actividad enzimática o la reducción de PLK1 es suficiente para inducir el bloqueo del ciclo celular de G2/M y la apoptosis en las líneas celulares tumorales y la regresión del tumor en modelos xenoinjerto. Además, para las otras PLKs, se ha descrito una función supresora del tumor y se informa que PLK2 y PLK3 –pero no PLK1– se expresan en células post-mitóticas diferenciadas, no proliferativas, como neuronas, indicando un mejor perfil de seguridad posible para un compuesto específico PLK1 (véase por ejemplo: Strebhardt K. y col., Nat Rev Cancer 2006; 6(4):321-30).

30 El uso de inhibidores mitóticos en la terapia contra el cáncer es una estrategia clínica ampliamente aceptada para el tratamiento de un rango amplio de cánceres humanos (véase por ejemplo: Jackson JR, y col., Nature Reviews Cancer 2007; 7, 107-117). Los taxanos (paclitaxel y docetaxel) y los alcaloides de la vinca (vincristina y vinblastina) actúan bien estabilizando o desestabilizando microtúbulos con consecuencias catastróficas en células que progresan mediante mitosis. Son terapias de primera línea para muchos tipos de tumores, incluida la enfermedad de Hodgkin, el linfoma no-Hodgkin, el cáncer de testículo, el neuroblastoma y el tumor de Wilms (alcaloides de la vinca) y de segunda línea en los cánceres de ovario refractarios al cisplatino, de mama, de pulmón y de esófago (Taxanos). Sin embargo, debido al papel de los microtúbulos en procesos como la migración celular, la fagocitosis y el transporte axonal, con estos agentes frecuentemente se observan ciertas toxicidades como la neuropatía periférica.

40 Las pirazoloquinazolininas descritas y reivindicadas en la solicitud de patente WO2008074788 (Nerviano Medical Sciences Srl.) son inhibidores potentes de PLK1 y por tanto son útiles en el tratamiento de enfermedades proliferativas, especialmente cáncer.

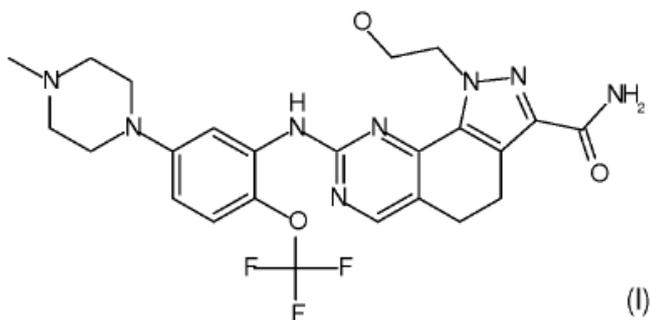
45 El compuesto de fórmula (I) es uno de los compuestos descritos y reivindicados en la solicitud de patente indicada arriba. Igualmente su preparación, las composiciones farmacéuticas que lo comprenden y los usos médicos se describen y reivindican aquí.

50 Sorprendentemente, ahora se ha encontrado que el efecto antitumoral del compuesto de fórmula (I) se potencia enormemente cuando se administra en combinación con agentes antineoplásicos conocidos.

55 La presente invención proporcionanuevas combinaciones que comprenden (a) un compuesto de fórmula (I) y (b) uno o varios agentes antineoplásicos conocidos. Estas combinaciones son particularmente apropiadas para el tratamiento de trastornos proliferativos, especialmente cáncer.

Más específicamente, las combinaciones de la presente invención son muy útiles en terapia como agentes antitumorales y carecen, en términos tanto de toxicidad como de efectos secundarios, de las desventajas asociadas a los fármacos antitumorales disponibles actualmente.

60 Por consiguiente, es un objeto de la presente invención una combinación que comprende (a) un compuesto de fórmula (I)



5 y (b) uno o varios agentes antineoplásicos seleccionados del grupo consistente en 5-fluorouracilo, citarabina, gemcitabina, cisplatino, SN-38, CPT11, doxorubicina, paclitaxel, sorafenib, dasatinib, bortezomib y bevacizumab, en la que los principios activos de la combinación están presentes en cada caso en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o cualquier hidrato o solvato de la misma.

10 Otro aspecto se refiere a una combinación de acuerdo con la invención para el uso simultáneo, separado o secuencial en terapia.

Otro aspecto se refiere a una combinación de acuerdo con la invención para el uso en el tratamiento o el retraso de la progresión de un trastorno proliferativo.

15 Además, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una combinación de acuerdo con la invención mezclada con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Otro aspecto se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la invención para el uso en el tratamiento o el retraso de la progresión de un trastorno proliferativo.

20 La presente invención proporciona además un kit comercial que comprende, en un medio contenedor apropiado, (a) un compuesto de fórmula (I) como se define arriba, y (b) uno o varios agentes antineoplásicos seleccionados del grupo consistente en 5-fluorouracilo, citarabina, gemcitabina, cisplatino, SN-38, CPT11, doxorubicina, paclitaxel, sorafenib, dasatinib, bortezomib y bevacizumab.

25 En un kit de acuerdo con la invención, (a) un compuesto de fórmula (I), como se define arriba, y (b) uno o varios agentes antineoplásicos seleccionados del grupo consistente en 5-fluorouracilo, citarabina, gemcitabina, cisplatino, SN-38, CPT11, doxorubicina, paclitaxel, sorafenib, dasatinib, bortezomib y bevacizumab, están presentes dentro de un medio contenedor individual o dentro de medios contenedores distintos.

30 Otra realización de la presente invención es un kit comercial que comprende una composición farmacéutica como se describe arriba.

Los kits de acuerdo con la invención están destinados al uso simultáneo, separado o secuencial en terapia antitumoral.

35 Los kits de acuerdo con la invención están destinados al uso en la terapia anticáncer.

40 Con el término "un efecto antineoplásico sinérgico" tal y como se usa aquí, se indica la inhibición del crecimiento tumoral, preferentemente la regresión completa del tumor, mediante la administración de una cantidad eficaz de la combinación del compuesto de fórmula (I) como se define arriba y uno o varios agentes antineoplásicos seleccionados del grupo consistente en 5-fluorouracilo, citarabina, gemcitabina, cisplatino, SN-38, CPT11, doxorubicina, paclitaxel, sorafenib, dasatinib, bortezomib y bevacizumab, a mamíferos, incluyendo humanos.

45 El término "preparación combinada" tal y como se usa aquí define especialmente un "kit de partes" en el sentido que los socios de combinación (a) y (b) como se definen arriba se pueden dosificar independientemente o mediante el uso de diferentes combinaciones fijas con cantidades destacadas de los socios de combinación (a) y (b), por ejemplo, simultáneamente o en diferentes instantes de tiempo. Entonces, las partes del kit de partes se pueden administrar, por ejemplo, simultáneamente o escalonadas cronológicamente, es decir en diferentes instantes de tiempo y a intervalos de tiempo iguales o diferentes para cualquier parte del kit de partes. Muy preferentemente, los intervalos de tiempo se seleccionan de tal modo que el efecto sobre la enfermedad tratada en el uso combinado de las partes es mayor que el efecto que se obtendría mediante el uso de solo uno de los socios de combinación (a) y (b). La relación de las cantidades totales del socio de combinación (a) respecto al socio de combinación (b) que se debe administrar en la preparación combinada puede variar, p. ej. para hacer frente a las necesidades de una subpoblación de pacientes que debe ser tratada o a las necesidades del paciente individual cuyas diferentes necesidades se pueden deber a la enfermedad particular, la edad, el sexo, el peso corporal, etc. de los pacientes.

Preferentemente, hay al menos un efecto beneficioso, p. ej. un refuerzo mutuo del efecto de los socios de combinación (a) y (b), en particular una sinergia, p. ej. un efecto más que aditivo, efectos ventajosos adicionales, menos efectos secundarios, un efecto terapéutico combinado en una dosificación no eficaz de uno o varios de los socios de combinación (a) y (b), y muy preferentemente una fuerte sinergia de los socios de combinación (a) y (b).

5 Con el término “administrado” o “administración” tal y como se usa aquí, se indica la administración parenteral y/u oral. Mediante “parenteral” se indica la administración intravenosa, subcutánea e intramuscular.

10 Para la administración del compuesto de fórmula (I) el curso de terapia empleado generalmente va desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 500 mg por dosis, de 1 a 5 veces al día.

15 El compuesto de fórmula (I) se puede administrar en una variedad de formas de dosificación, p. ej. oralmente, en forma de comprimidos, cápsulas, grageas o comprimidos recubiertos con película, soluciones líquidas o suspensiones; rectalmente en forma de supositorios; parenteralmente, p. ej. intramuscularmente, o mediante inyección o infusión intravenosa y/o intratecal y/o intraespinal.

20 En el método de la invención, para la administración de citarabina o gemcitabina, el curso de terapia empleado generalmente va desde 200 mg/m² hasta 5000 mg/m² de área de superficie corporal como administración semanal. Más preferentemente, el curso de terapia empleado generalmente va desde aproximadamente 500 mg/m² hasta 1250 mg/m² en los días 1 y 8 de un ciclo de 21 días o en los días 1, 8 y 15 de un ciclo de 28 días o en el día 1 de un ciclo de 21 días.

25 Para la administración de cisplatino, el curso de terapia empleado generalmente va desde 10 mg/m² hasta 100 mg/m² de área de superficie corporal diariamente cada 2-3 semanas. Más preferentemente, el curso de terapia empleado generalmente va desde aproximadamente 30 mg/m² hasta 85 mg/m² en el día 1, una vez cada 2 semanas.

30 Para la administración de CPT-11, el curso de terapia empleado generalmente va desde 1 mg/m² hasta 500 mg/m² de área de superficie corporal diariamente durante 2-10 días consecutivos. Más preferentemente, el curso de terapia empleado generalmente va desde aproximadamente 50 mg/m² hasta 350 mg/m² semanalmente o cada dos semanas o cada tres semanas.

35 Para la administración de doxorubicina, el curso de terapia empleado generalmente va desde 0,1 mg/m² hasta 500 mg/m² de área de superficie corporal diariamente durante 2 – 10 días consecutivos. Más preferentemente, el curso de terapia empleado generalmente va desde aproximadamente 0,5 mg/m² hasta 100 mg/m² diariamente durante 3-5 días consecutivos en un ciclo de 21 días.

40 Para la administración de paclitaxel, el curso de terapia empleado generalmente va desde 50 mg/m² hasta 100 mg/m² de área de superficie corporal cada tres semanas o desde 30 mg/m² semanalmente.

45 Para la administración de sorafenib, el curso de terapia empleado generalmente va desde 1 mg hasta 5000 mg. Más preferentemente, el curso de terapia empleado va desde aproximadamente 10 mg hasta 2000 mg.

50 Para la administración de bortezumib, el curso de terapia empleado generalmente va desde 0,1 mg/m² hasta 30 mg/m² de área de superficie corporal cada tres semanas.

55 Finalmente, para la administración de bevacizumab, el curso de terapia empleado generalmente va desde 0,1 mg/kg hasta 100 mg/kg. Más preferentemente, el curso de terapia empleado va de 1 mg/kg hasta 20 mg/kg el día 1 de un ciclo de tres semanas.

60 Cuando los constituyentes activos de la preparación combinada de acuerdo con la invención se suministran con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable, se forma una composición farmacéutica. Dicha composición farmacéutica constituye otra realización de la invención.

65 Los portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables se seleccionan de tal modo que se minimicen los efectos secundarios del compuesto farmacéutico y el rendimiento del compuesto no se cancele o inhiba hasta el punto de que el tratamiento no sea eficaz.

Los portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables que se utilizan en la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención son bien conocidos por los expertos en la técnica de formulación de compuestos en forma de composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, “portador farmacéuticamente aceptable” se refiere a una o varias cargas sólidas o líquidas compatibles, sustancias diluyentes o de encapsulación, las cuales son apropiadas para la administración a mamíferos, incluyendo humanos. Por ejemplo, “excipiente farmacéuticamente aceptable” se refiere a cualquier sustancia inerte usada como un diluyente o vehículo para principio(s) activo(s) que se añade intencionadamente a la formulación de una forma de dosificación. El término incluye aglutinantes, desintegrantes de cargas y lubricantes.

Sin embargo, la combinación de la presente invención se puede emplear sin añadir ningún adyuvante de liberación sostenida.

- 5 En "Remington's Pharmacological Sciences"; Mack Publishing Co., Easton, PA., última edición, se pueden encontrar las técnicas para la formulación y la administración de fármacos.

10 Las composiciones farmacéuticas apropiadas para la administración parenteral se formulan de forma estéril. Así, la composición estéril puede ser una solución o una suspensión estéril en un diluyente o disolvente no tóxico aceptable parenteralmente. La cantidad de principio activo contenido en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede variar ampliamente dependiendo de muchos factores, como por ejemplo, la vía y el vehículo de administración.

15 Las combinaciones y las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención son útiles en la terapia anticáncer.

20 La terapia antineoplásica de la presente invención es apropiada en particular para el tratamiento de todas las formas de cáncer, incluyendo pero sin limitarse a: carcinoma, como el de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas, estómago, cerviz, tiroides, próstata, y piel, incluyendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfocítico, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkett; tumores hematopoyéticos de linaje mielocítico, incluyendo las leucemias mielogénicas aguda y crónica, incluyendo síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; otros tumores, que incluyen melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratocarcinoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi.

30 Debido al papel principal de PLK1 en la regulación de la proliferación celular, las combinaciones y las composiciones farmacéuticas de la presente invención también son útiles en el tratamiento de una variedad de trastornos proliferativos tales como, por ejemplo, la hiperplasia benigna de próstata, la adenomatosis familiar, la poliposis, la neurofibromatosis, la psoriasis, la proliferación de células lisas vasculares asociada con aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, la artritis, la glomerulonefritis y la estenosis y reestenosis post-quirúrgica.

35 Las combinaciones y las composiciones farmacéuticas de esta invención, como moduladores de la apoptosis, pueden ser útiles también en el tratamiento del cáncer, infecciones víricas, prevención del desarrollo del SIDA en individuos infectados con VIH, enfermedades autoinmunes y trastornos neurodegenerativos.

40 El efecto antineoplásico de las preparaciones combinadas de la presente invención se presenta, por ejemplo, mediante los siguientes ensayos in vitro, los cuales pretenden ilustrar la presente invención.

EJEMPLOS

45 Materiales y métodos: Líneas celulares de carcinoma pancreático humano (Mia-PaCa, Capan-1), carcinoma de colon humano (HCT-116), leucemia (HL60) y mieloma múltiple (KMS11) en crecimiento exponencial se sembraron e incubaron a 37°C en una atmósfera humidificada al 5% de CO₂. Los fármacos se añadieron al cultivo experimental, y las incubaciones se llevaron a cabo a 37°C durante 72 h en la oscuridad. La línea celular de cáncer de mama MCF7 se sembró e incubó a 37°C en una atmósfera humidificada al 5% de CO₂. Los fármacos se añadieron al cultivo experimental, y las incubaciones se llevaron a cabo a 37°C durante 120 h en la oscuridad. Se añadieron al medio dosis escalares del compuesto de fórmula (I) y agentes antineoplásicos 24 h tras la siembra. Se ensayaron dos pautas de tratamiento: la administración simultánea (ambos fármacos administrados a las células durante 72/120 horas) y la administración secuencial (el compuesto de fórmula (I) administrado 24 horas después de otros agentes). Las soluciones de fármaco se prepararon inmediatamente antes de su uso. Al final de tratamiento, se determinó la proliferación celular mediante un sistema de monitorización de adenosina trifosfato intracelular (CellTiterGlo-Promega) usando un lector Envision (PerkinElmer). La actividad inhibidora se evaluó comparando datos tratados versus control usando el programa Assay Explorer (MDL). Se calculó la dosis que inhibió el 50% del crecimiento celular usando una curva de interpolación sigmoidea. Los índices de combinación (C.I.) se calcularon usando un programa propio del ordenador para el análisis del efecto de múltiples fármacos basado en la ecuación Chou-Talalay (Adv Enzyme Regul 1984; 22:27-55) para fármacos mutuamente no exclusivos, donde C.I. < 1 indica un efecto más que aditivo; C.I. > 3 fuerte antagonismo; 1,3 – 3 antagonismo; 1,2 – 0,8 aditividad; 0,8 – 0,3 sinergia; < 0,3 fuerte sinergia.

Ejemplo 1: actividad citotóxica in vitro de la combinación del compuesto de fórmula (I) con gemcitabina.

65 En la tabla 1 se presentan los resultados que muestran sinergia del compuesto de fórmula (I) con gemcitabina (es decir, 0,3 < C.I. < 0,8) para la línea celular de carcinoma pancreático humano Capan-1.

TABLA 1

Líneacelular	Fármaco		Pauta	Índice de combinación
	Compuesto de fórmula (I) μM	Gemcitabina μM		
Carcinoma pancreático humano Capan-1	10	5	Simultánea	0,51
	10	10		0,57
	5	10		0,76
	2,5	10		0,77

5 Ejemplo 2: actividad citotóxica in vitro de la combinación del compuesto de fórmula (I) con cisplatino.

En la tabla 2 se presentan los resultados que muestran sinergia del compuesto de fórmula (I) con cisplatino (es decir, $0,3 < \text{C.I.} < 0,8$) para la línea celular de carcinoma de colon humano HCT-116.

10 TABLA 2

Líneacelular	Fármaco		Pauta	Índice de combinación
	Compuesto de fórmula (I) μM	Cisplatino μM		
Carcinoma de colon humano HCT-116	0,2	25	Secuencial	0,61
	0,2	50		0,46
	0,1	50		0,41
	0,05	50		0,72

15 Ejemplo 3: actividad citotóxica in vitro de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con SN-38.

En la tabla 3 se presentan los resultados que muestran sinergia del compuesto de fórmula (I) con SN-38 (es decir, $0,3 < \text{C.I.} < 0,8$) para la línea celular de carcinoma de colon humano HCT-116.

20 TABLA 3

Líneacelular	Fármaco		Pauta	Índice de combinación
	Compuesto de fórmula (I) μM	SN-38 μM		
Carcinoma de colon humano HCT-116	0,1	0,05	Simultánea	0,70
	0,1	0,1		0,53
	0,05	0,1		0,56
	0,025	0,1		0,49

Ejemplo 4: actividad citotóxica in vitro de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con doxorubicina.

25 En la tabla 4 se presentan los resultados que muestran sinergia del compuesto de fórmula (I) con doxorubicina (es decir, $0,3 < \text{C.I.} < 0,8$) para la línea celular de leucemia humana HL-60.

TABLA 4

Líneacelular	Fármaco		Pauta	Índice de combinación
	Compuesto de fórmula (I) μM	SN-38 μM		
Leucemia humana HL-60	0,1	0,5	Simultánea	0,51
	0,1	1		0,36
	0,05	1		0,57
	0,025	1		0,51

30

Ejemplo 5: actividad citotóxica in vitro de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con Paclitaxel.

35 En la tabla 5 se presentan los resultados que muestran sinergia del compuesto de fórmula (I) con taxol (es decir, $0,3 < \text{C.I.} < 0,8$) para las líneas celulares de carcinoma de colon humano HCT-116, leucemia humana HL60 y mieloma múltiple humano KMS11.

TABLA 5

Líneacelular	Fármaco		Pauta	Índice de combinación
	Compuesto de fórmula (I) μM	Paclitaxel μM		
Carcinoma de colon humano HCT-116	0,1	0,1	Simultánea	0,54
	0,05	0,1		0,42
	0,025	0,1		0,39
Carcinoma de colon humano HCT-116	0,2	0,1	Secuencial	0,42
	0,1	0,1		0,45
	0,05	0,1		0,44
Leucemia humana HL-60	0,1	0,1	Simultánea	0,68
	0,05	0,1		0,52
	0,025	0,1		0,54
Leucemia humana HL-60	0,2	0,1	Secuencial	0,54
	0,1	0,1		0,45
	0,05	0,1		0,46
Mieloma múltiple humano KMS-11	0,1	0,05	Simultánea	0,65
	0,1	0,1		0,39
	0,05	0,1		0,40
	0,025	0,1		0,34
Mieloma múltiple humano KMS-11	0,2	0,1	Secuencial	0,59
	0,1	0,1		0,59
	0,05	0,1		0,54

5 Ejemplo 6: actividad citotóxica in vitro de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con sorafenib.

En la tabla 6 se presentan los resultados que muestran sinergia del compuesto de fórmula (I) con sorafenib (es decir, $0,3 < \text{C.I.} < 0,8$) para las líneas celulares de carcinoma de colon humano HCT-116 y carcinoma pancreático humano Mia-PaCa.

10

TABLA 6

Líneacelular	Fármaco		Pauta	Índice de combinación
	Compuesto de fórmula (I) μM	Sorafenib μM		
Carcinoma de colon humano HCT-116	0,2	5	Secuencial	0,55
	0,2	10		0,65
	0,1	10		0,58
	0,05	10		0,58
Carcinoma pancreático humano Mia-PaCa	0,2	5	Secuencial	0,65
	0,2	10		0,57
	0,1	10		0,54
	0,05	10		0,64

15 Ejemplo 7: actividad citotóxica in vitro de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con dasatinib.

En la tabla 7 se presentan los resultados que muestran sinergia del compuesto de fórmula (I) con dasatinib (es decir, $0,3 < \text{C.I.} < 0,8$) para la línea celular del cáncer de mama MCF7 tras 120 horas de tratamiento.

20 TABLA 7

Líneacelular	Fármaco		Pauta	Índice de combinación
	Compuesto de fórmula (I) μM	dasatinib μM		
Carcinoma de mama humano MCF7	10	5	Simultánea	0,45
	10	10		0,48
	5	10		0,52
	2,5	10		0,47

Ejemplo 8: actividad citotóxica in vitro de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con bortezomib.

En la tabla 8 se presentan los resultados que muestran sinergia del compuesto de fórmula (I) con bortezomib (es decir, $0,3 < C.I. < 0,8$) para las líneas celulares de mieloma múltiple humano KMS11 y carcinoma pancreático humano Mia-PaCa.

5 TABLA 8

Líneacelular	Fármaco		Pauta	Índice de combinación
	Compuesto de fórmula (I) μM	Bortezomib μM		
Mieloma múltiple humano KMS-11	0,05	0,1	Simultánea	0,57
Carcinoma pancreático humano Mia-PaCa	0,025	0,1	Simultánea	0,61

Ejemplo 9: actividad citotóxica in vitro de la combinación del compuesto de fórmula (I) con citarabina.

10 En la tabla 9 se presentan los resultados que muestran sinergia del compuesto de fórmula (I) con citarabina (es decir, $0,3 < C.I. < 0,8$) para la línea celular de la leucemia promielocítica humana HL-60.

15 TABLA 9

Líneacelular	Fármaco		Pauta	Índice de combinación
	NMS-1286937 μM	Citarabina μM		
Leucemia HL60	0,1	5	Secuencial	0,59
	10	0,05		0,47
	10	0,025		0,58
	2,5	10		0,67

Ejemplo 10: actividad citotóxica in vivo de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con CPT11.

20 Ratones macho Balb, Nu/Nu de Harlan (Italia), se mantuvieron en jaulas cubiertas con papel de filtro, con comida, agua acidulada y lecho esterilizado, de acuerdo con la Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas nº. 86/609/EEC. Se implantaron de forma subcutánea fragmentos de tumores de cáncer de colon humano HT29. El tratamiento empezó cuando los tumores fueron palpables. El compuesto de fórmula (I) se administró por vía oral a las dosis de 45 y 60 mg/kg el día 2, 3, 4, 6, 7 y 8. CPT11 se administró por vía intravenosa a la dosis de 45 mg/kg los días 1, 5, 9. Combinado, el compuesto de fórmula (I) se administró el día 2, 3, 4, 6, 7 y 8 y el CPT11 los días 1, 5, 9. El crecimiento tumoral y el peso corporal se midieron cada 3 días. El crecimiento tumoral se evaluó mediante calibrador. Se registraron los dos diámetros y el peso del tumor se calculó de acuerdo con la fórmula siguiente: longitud (mm) x anchura²/2. El efecto del tratamiento antitumoral se evaluó como el retraso en el inicio de un crecimiento exponencial del tumor (véanse para referencias Anticancer drugs 7: 437-60, 1996). Este retraso (valor T-C) se definió como la diferencia de tiempo (en días) necesaria para que los tumores del grupo de tratamiento (T) y del grupo de control (C) alcancen un tamaño predeterminado (1 g).

30 Se identificó sinergia cuando el T-C de la combinación de fármacos es > que la adición del valor T-C de los agentes individuales.

35 La toxicidad se evaluó basándose en la reducción del peso corporal. Los resultados se presentan en la tabla 10.

TABLA 10

Tratamiento	T-C (días)	Toxicidad
Compuesto de fórmula (I) 45mg/kg*	10,3	0/7
CPT11 45mg/kg** CPT11 45mg/kg+	12,3	0/7
Compuesto de fórmula (I) 45mg/kg***	36	0/7

* Tratamientos orales realizados el día 2, 3, 4, 6, 7, 8

**Tratamientos realizados por vía intravenosa los días 1, 5, 9

5 ***Tratamientos con el compuesto de fórmula (I) los días 2, 3, 4, 6, 7, 8; tratamientos con CPT11 los días 1, 5, 9

El compuesto de fórmula (I) combinado con CPT11 produjo un claro efecto sinérgico. El T-C observado cuando un compuesto de fórmula (I) se combinó con CPT11 fue superior al esperado por la simple adición del T-C obtenido mediante los tratamientos individuales. No se observó toxicidad en ninguno del grupo de tratamiento.

10

Ejemplo 11: actividad citotóxica in vivo de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con 5FU.

15 Ratones macho Balb, Nu/Nu de Harlan (Italia), se mantuvieron en jaulas cubiertas con papel de filtro, con comida, agua acidulada y lecho esterilizado, de acuerdo con la Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas nº. 86/609/EEC. Se implantaron de forma subcutánea fragmentos de tumores de cáncer de colon humanos HT29. El tratamiento empezó cuando los tumores fueron palpables. El compuesto de fórmula (I) se administró por vía oral a la dosis de 45 mg/kg el día 2, 3, 4, 6, 7 y 8, 5FU se administró por vía intravenosa a la dosis de 50 mg/kg los días 1, 5 y 9. El crecimiento tumoral y el peso corporal se midieron cada 3 días. El crecimiento tumoral se evaluó mediante calibrador. Se registraron los dos diámetros y el peso del tumor se calculó de acuerdo con la fórmula siguiente: longitud (mm) x anchura²/2. El efecto del tratamiento antitumoral se evaluó como el retraso en el inicio de un crecimiento exponencial del tumor (véanse para referencias Anticancer drugs 7: 437-60, 1996). Este retraso (valor T-C) se definió como la diferencia de tiempo (en días) necesaria para que los tumores del grupo de tratamiento (T) y del grupo de control (C) alcancen un tamaño predeterminado (1 g). Se identificó sinergia cuando el T-C de la combinación es > que la adición del valor T-C de los agentes individuales, se identificó aditividad cuando el valor T-C de la combinación de fármacos es igual a la adición del valor T-C de los agentes individuales.

20

La toxicidad se evaluó basándose en la reducción del peso corporal. Los resultados se presentan en la tabla 11.

TABLA 11

30

Tratamiento	T-C (días)	Toxicidad
Compuesto de fórmula (I) 45mg/kg*	10,3	0/7
5FU 50mg/kg**	11,4	0/7
5FU 50mg/kg+ Compuesto de fórmula (I) 45mg/kg***	21,27	0/7

* Tratamientos orales realizados el día 2, 3, 4, 6, 7, 8

**Tratamientos realizados por vía intravenosa los días 1, 5, 9

35

***Tratamientos con el compuesto de fórmula (I) los días 2, 3, 4, 6, 7, 8; tratamientos con 5FU los días 1, 5, 9

El T-C observado cuando un compuesto de fórmula (I) se combinó con 5FU fue similar al esperado por la simple adición del T-C obtenido mediante los tratamientos individuales, indicando aditividad.

40

Ejemplo 12: actividad citotóxica in vivo de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con bevacizumab

45 Ratones macho Balb, Nu/Nu de Harlan (Italia), se mantuvieron en jaulas cubiertas con papel de filtro, con comida, agua acidulada y lecho esterilizado, de acuerdo con la Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas nº. 86/609/EEC. Se implantaron de forma subcutánea fragmentos de tumores de cáncer de colon humano HT29. El tratamiento empezó cuando los tumores fueron palpables. El compuesto de fórmula (I) se administró por vía oral en un volumen de 10 ml/kg a las dosis de 45 mg/kg y 60 mg/kg el día 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11 y 12. Bevacizumab se administró por vía intraperitoneal a la dosis de 20 mg/kg los días 1, 5, 9 y 13. Combinados, el compuesto de fórmula (I) se administró el día 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11 y 12 y bevacizumab los días 1, 5, 9 y 13. El crecimiento tumoral y el peso corporal se midieron cada 3 días. El crecimiento tumoral se evaluó mediante calibrador. Se registraron los dos diámetros y el peso del tumor se calculó de acuerdo con la fórmula siguiente: longitud (mm) x anchura²/2. El efecto del tratamiento antitumoral se evaluó como el retraso en el inicio de un crecimiento exponencial del tumor (véanse para referencias Anticancer drugs 7: 437-60, 1996). Este retraso (valor T-C) se definió como la diferencia de tiempo (en días) necesaria para que los tumores del grupo de tratamiento (T) y del grupo de control (C) alcancen un tamaño

50

predeterminado (1 g). Se identificó sinergia cuando el T-C de la combinación es > que la adición del valor T-C de los agentes individuales, se identificó aditividad cuando el valor T-C de la combinación de fármacos es igual a la adición del valor T-C de los agentes individuales. La toxicidad se evaluó basándose en la reducción del peso corporal. Los resultados se presentan en la tabla 12.

5

TABLA 12

Tratamiento	T-C (días)	Toxicidad
Compuesto de fórmula (I) 45mg/kg*	8,5	0/7
Compuesto de fórmula (I) 60 mg/kg*	16,8	0/7
Bevacizumab 20 mg/kg**	4,7	0/7
Bevacizumab 20 mg/kg+ Compuesto de fórmula (I) 45 mg/kg***	13,7	0/7
Bevacizumab 20 mg/kg+ Compuesto de fórmula (I) 60 mg/kg***	19,4	0/7

* Tratamientos orales realizados el día 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12.

10

**Tratamientos realizados por vía intravenosa los días 1, 5, 9, 13

***Tratamientos con el compuesto de fórmula (I) los días 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12; tratamientos con bevacizumab los días 1, 5, 9, 13.

15

El T-C observado cuando un compuesto de fórmula (I) se combinó con bevacizumab fue similar al esperado por la simple adición del T-C obtenido mediante los tratamientos individuales. No se observó toxicidad en ninguno del grupo de tratamiento.

20

Ejemplo 13: actividad citotóxica in vivo de la combinación de un compuesto de fórmula (I) con Citarabina

Ratones hembra SCID de Harlan (Italia), se mantuvieron en jaulas cubiertas con papel de filtro, con comida, agua acidulada y lecho esterilizado, de acuerdo con la Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas nº. 86/609/EEC. Se inyectaron de forma intravenosa en los ratones 5×10^6 células de leucemia mieloide aguda AML-PS en 0,2 ml.

25

El compuesto de fórmula (I) se administró por vía oral a la dosis de 120 mg/kg los días 2, 3, 14, 15, 26, 27, 38, 39. Se administró Citarabina por vía intraperitoneal a la dosis de 75 mg/kg los días 2, 3, 4, 5, 6, 14, 15, 16, 17, 18, 26, 27, 28, 29, 30, 38, 39, 40, 41, 42. Combinados, el compuesto de fórmula (I) se administró los días 2, 3, 14, 15, 26, 27, 38, 39 y citarabina los días 2, 3, 4, 5, 6, 14, 15, 16, 17, 18, 26, 27, 28, 29, 30, 38, 39, 40, 41, 42. El peso corporal se midió cada 3 días. El efecto del tratamiento antitumoral se evaluó determinando el Tiempo de Supervivencia Medio de los animales tratados respecto al grupo de control. Los resultados se presentan en la tabla 13.

30

La eficacia antitumoral en el grupo combinación es estadísticamente significativa respecto a los grupos de tratamiento individuales, indicando una sinergia potencial de un tratamiento combinado con el compuesto de fórmula (I) y citarabina. No se observó toxicidad.

35

TABLA 13

Tratamiento	Tiempo de Supervivencia Medio	Toxicidad
Control	34	0/7
Compuesto de fórmula (I) 120 mg/kg*	49,5	0/7
Citarabina 75 mg/kg**	66,5	0/7

ES 2 617 689 T3

Citarabina 75 mg/kg+		
Compuesto de fórmula (I)	78,5	0/7
120 mg/kg***		

* Tratamientos orales realizados el día 2, 3, 14, 15, 26, 27, 38, 39,

5 **Tratamientos realizados por vía intraperitoneal los días 2, 3, 4, 5, 6, 14, 15, 16, 17, 18, 26, 27, 28, 29, 30, 38, 39, 40, 41, 42.

***Tratamientos con el compuesto de fórmula (I) los días 2, 3, 14, 15, 26, 27, 38, 39, tratamientos con citarabina, por vía intraperitoneal los días 2, 3, 4, 5, 6, 14, 15, 16, 17, 18, 26, 27, 28, 29, 30, 38, 39, 40, 41, 42,

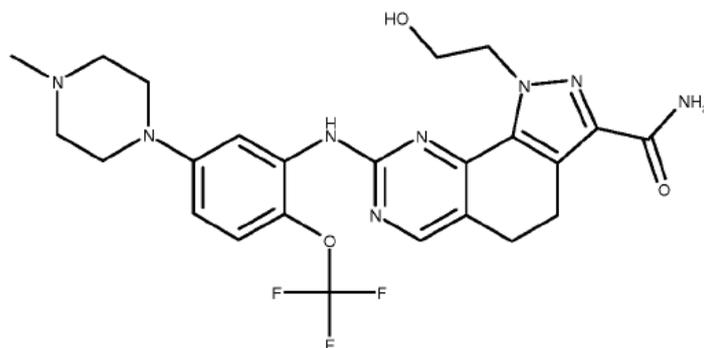
10

15

REIVINDICACIONES

1. Una combinación que comprende (a) un compuesto de fórmula (I)

5



(I)

- 10 y (b) uno o varios agentes antineoplásicos seleccionados del grupo consistente en 5-fluorouracilo, citarabina, gemcitabina, cisplatino, SN-38, CPT11, doxorubicina, paclitaxel, sorafenib, dasatinib, bortezomib y bevacizumab, en la que los principios activos de la combinación están presentes en cada caso en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o cualquier hidrato o solvato de la misma.
- 15 2. Una composición farmacéutica que comprende la combinación de acuerdo con la reivindicación 1 mezclada con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
3. La combinación de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, para el uso simultáneo, separado o secuencial en terapia.
- 20 4. Un kit comercial que comprende, en un medio contenedor apropiado, una combinación como se define en la reivindicación 1 o una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 2, para el uso simultáneo, separado o secuencial en la terapia del mismo.
- 25 5. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para el uso en el tratamiento o retraso en la progresión de un trastorno proliferativo.
6. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para el uso en la reducción de los efectos secundarios causados por la terapia antineoplásica con un agente antineoplásico en mamíferos, incluidos humanos.