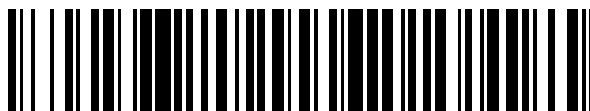


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 622 559**

51 Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2009 PCT/EP2009/059815**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2010 WO10012777**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2009 E 09781243 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017 EP 2320903**

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

30 Prioridad:

29.07.2008 EP 08161320

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

06.07.2017

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:

**CIOMEI, MARINA;
MARSIGLIO, AURELIO;
CROCI, VALTER DOMENICO y
PESENTI, ENRICO**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 622 559 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 cdk y un agente antineoplásico

5 Campo técnico

La presente invención se refiere en general al campo de tratamiento de cáncer y, más particularmente, proporciona una composición antitumoral que comprende un inhibidor de CDK y uno o más agentes antineoplásicos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina y 5-fluorouracil (5-FU), que tienen un efecto antineoplásico sinérgico.

Técnica anterior

Se sabe bien que la progresión a través del ciclo celular se rige por una serie de puntos de control, denominados de otro modo como puntos de restricción, que están regulados por una familia de enzimas conocidas como las cinasas dependientes de ciclina (cdk). A su vez, las propias cdk están reguladas en muchos niveles tales como, por ejemplo, unión a ciclinas.

La activación e inactivación coordinadas de diferentes complejos ciclina/cdk es necesaria para la progresión normal a través del ciclo celular. Las transiciones críticas tanto G1-S como G2-M están controladas por la activación de diferentes actividades de ciclina/cdk. En G1, se cree que tanto la ciclina D/cdk4 como la ciclina E/cdk2 median en el comienzo de la fase S. La progresión a través de la fase S requiere la actividad de ciclina A/cdk2 mientras que para el comienzo de la mitosis se requieren la activación de ciclina A/cdc2 (cdk1) y ciclina B/cdc2. Para una referencia general con respecto a ciclinas y cinasas dependientes de ciclina véase, por ejemplo, Kevin R. Webster *et al.*, en Exp. Opin. Invest. Drugs, 1998, vol. 7(6), 865-887.

Los puntos de control son deficientes en células tumorales debido, en parte, a la desregulación de la actividad de las cdk. Por ejemplo, se ha observado expresión alterada de ciclina E y cdk en células tumorales, y se ha mostrado que la delección del gen p27 KIP inhibidor de cdk en ratones daba como resultado una mayor incidencia de cáncer.

Existen cada vez más pruebas que apoyan la idea de que las cdk son enzimas limitantes de la velocidad en la progresión del ciclo celular y, como tal, representan dianas moleculares para intervención terapéutica. En particular, la inhibición directa de la actividad cinasa de cdk/ciclina debería servir de ayuda en la restricción de la proliferación desregulada de una célula tumoral.

El documento WO2007090794 (Nerviano Medical Sciences) da a conocer combinaciones terapéuticas entre un inhibidor de cdk y anticuerpos monoclonales o agentes antimitóticos tales como epotilona o taxanos como docetaxel o paclitaxel. Los documentos WO2004110455, WO2004041308 y WO03/077999 (Cyclacel Ltd.) se refieren a las combinaciones de un inhibidor de cdk y CPT-11, gemcitabina o 5-fluorouracil respectivamente. El documento WO2005094830 (Pfizer, Inc.) describe combinaciones de inhibidores de transducción de señal tales como inhibidores de cdk y el documento WO03/020272 (Bristol-Myers Squibb Co.) describe una combinación de inhibidores de proteína cinasa con agentes terapéuticos.

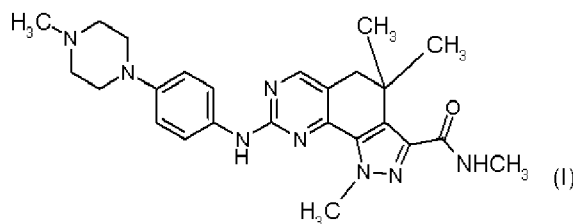
Existe una continua necesidad de una combinación de fármacos anticancerígenos conocidos con el fin de optimizar el tratamiento terapéutico.

Algunas pirazoloquinazolininas han demostrado ser potentes inhibidores de enzimas cinasas dependientes de ciclina, particularmente Cdk2. Uno de estos compuestos está actualmente en desarrollo como agente anticancerígeno. Se entiende que los inhibidores de cdk bloquean el paso de células desde la fase G2/M del ciclo celular.

La presente invención proporciona nuevas combinaciones de un inhibidor de Cdk con agentes farmacéuticos conocidos que son particularmente adecuados 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 los inconvenientes asociados con los fármacos antitumorales disponibles actualmente.

Descripción de la invención

La presente invención proporciona, en un primer aspecto, una combinación terapéutica que comprende (a) un compuesto de fórmula (I):



y (b) uno o más agentes antineoplásicos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina y 5-fluorouracil (5-FU), en la que los principios activos están presentes en cada caso en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o cualquier hidrato de los mismos.

La presente invención también proporciona una preparación combinada para uso simultáneo, por separado o secuencial de la combinación tal como se describió anteriormente.

En un aspecto adicional, la invención se refiere al uso de la combinación según la invención en un método para tratar o retrasar la evolución de un trastorno proliferativo, en el que el dicho método comprende la administración simultánea, secuencial o por separada de la combinación terapéutica a un sujeto que lo necesita.

En todavía un aspecto adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una combinación según la invención mezclada con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

El compuesto de fórmula (I) tiene el nombre químico metilamida de ácido 8-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenilamino]-1,4,4-trimetil-4,5-dihidro-1H-pirazolo[4,3-h]quinazolina-3-carboxílico. Puede prepararse tal como se describe en el documento WO2004104007 (Farmacia Italia SpA), está dotado de actividad inhibidora de proteína cinasa y es por tanto útil en terapia como agente antitumoral. En particular, la preparación preferida del compuesto de fórmula (I) es aquella descrita en el ejemplo 58 de la solicitud de patente internacional mencionada anteriormente.

Las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de fórmula (I) incluyen las sales de adición de ácido con ácidos inorgánicos u orgánicos, por ejemplo, ácidos nítrico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, perclórico, fosfórico, acético, trifluoroacético, propiónico, glicólico, láctico, oxálico, malónico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzoico, cinámico, mandélico, metanosulfónico, isetiónico y similares.

La gemcitabina puede administrarse, por ejemplo, en la forma en la que se comercializa, por ejemplo bajo la marca GEMZAR®.

En la presente invención, cada uno de los principios activos de la combinación está en una cantidad eficaz para producir un efecto antineoplásico sinérgico.

La presente invención también proporciona un método para disminuir los efectos secundarios producidos por la terapia antineoplásica con un agente antineoplásico en mamíferos, incluyendo humanos, que lo necesiten, comprendiendo el método administrar a dicho mamífero una preparación combinada que comprende el compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente y uno o más agentes antineoplásicos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina y 5-fluorouracil (5-FU), en cantidades eficaces para producir un efecto antineoplásico sinérgico.

Por el término "un efecto antineoplásico sinérgico", tal como se usa en el presente documento, se entiende la inhibición del crecimiento tumoral, preferiblemente la regresión completa del tumor, administrando una cantidad eficaz de la combinación del compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente y gemcitabina o 5-fluorouracil (5-FU) a mamíferos, incluyendo humanos.

El término "preparación combinada", tal como se usa en el presente documento, define especialmente un "kit de partes" en el sentido de que los componentes (a) y (b) de la combinación tal como se definió anteriormente pueden dosificarse independientemente o mediante el uso de diferentes combinaciones fijas con cantidades distinguidas de los componentes (a) y (b) de la combinación, es decir simultáneamente o en diferentes momentos. Las partes del kit de partes pueden entonces, por ejemplo, administrarse simultáneamente o de manera escalonada cronológicamente, esto es en diferentes momentos y con intervalos de tiempo iguales o diferentes para cualquier parte del kit de partes. Muy preferiblemente, los intervalos de tiempo se eligen de manera que el efecto en la enfermedad tratada en el uso combinado de las partes sea mayor que el efecto que se obtendría usando solo uno cualquiera de los componentes (a) y (b) de la combinación. La razón de las cantidades totales del componente (a) de la combinación con respecto al componente (b) de la combinación que van a administrarse en la preparación combinada puede variarse, por ejemplo con el fin de afrontar las necesidades de una subpoblación paciente que va a tratarse o las necesidades del paciente individual cuyas diferentes necesidades pueden deberse a la enfermedad particular, edad, sexo, peso corporal, etc. de los pacientes. Preferiblemente, existe al menos un efecto beneficioso, por ejemplo, una potenciación mutua del efecto de los componentes (a) y (b) de la combinación, en particular una

sinergia, por ejemplo un efecto más que aditivo, efectos ventajosos adicionales, menos efectos secundarios, un efecto terapéutico combinado en una dosificación no eficaz de uno o ambos componentes (a) y (b) de la combinación, y muy preferiblemente una fuerte sinergia de los componentes (a) y (b) de la combinación.

5 Por el término “se administra” o “administrar”, tal como se usa en el presente documento, se entiende administración parenteral y/u oral. Por “parenteral” se entiende administración intravenosa, subcutánea e intramuscular.

10 En el método de la invención sujeto, para la administración del compuesto de fórmula (I), el curso de la terapia generalmente empleada está en el intervalo de desde 5 mg/m² hasta 1,5 g/m² de área de superficie corporal. Más preferiblemente, el curso de la terapia empleada es de desde aproximadamente 15 mg/m²/día hasta aproximadamente 200 mg/m²/día de área de superficie corporal. Los regímenes típicos comprenden los siguientes programas de administración: diariamente durante hasta 21 días consecutivos; diariamente en los días de 1 a 7 de un ciclo de dos semanas; diariamente en los días de 1 a 4 en cada una de tres semanas consecutivas de un ciclo de cuatro semanas; diariamente en los días de 1 a 14 de un ciclo de tres semanas; diariamente en los días de 1 a 7 y de 15 a 21 de un ciclo de cuatro semanas.

20 El compuesto de fórmula (I) puede administrarse en una variedad de formas de dosificación, por ejemplo, por vía oral, en forma de comprimidos, cápsulas, comprimidos recubiertos por película o azúcar, disoluciones o suspensiones líquidas; por vía rectal en forma de supositorios; por vía parenteral, por ejemplo, intramuscular, o a través de inyección o infusión intravenosa y/o intratecal y/o intrarraquídea.

25 En el método de la invención sujeto, para la administración de gemcitabina, el curso de la terapia generalmente empleada es de desde 200 mg/m² hasta 2000 mg/m² como administración semanal. Más preferiblemente, el curso de la terapia generalmente empleada es de 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.

30 La terapia antineoplásica de la presente invención es adecuada en particular para tratar todas las formas de cáncer incluyendo, pero sin limitarse a: carcinoma tal como de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula biliar, ovarios, páncreas, estómago, cuello uterino, tiroides, próstata, y piel, incluyendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfático incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de linfocitos B, linfoma de linfocitos T, linfoma de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkett; tumores hematopoyéticos de linaje mielóide, incluyendo leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome mielodiplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rabdomiosarcoma; mesotelioma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xerodermia pigmentosa, queratoacantoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi.

40 Tal como se declaró anteriormente, el efecto de la combinación de la invención se aumenta significativamente sin una toxicidad aumentada paralela. En otras palabras, la terapia combinada de la presente invención potencia los efectos antitumorales del componente (a) y/o del componente (b) de la combinación de la invención y por tanto produce el tratamiento más eficaz y menos tóxico para tumores.

45 Las composiciones farmacéuticas según la invención son útiles en terapia anticancerígena.

50 La presente invención proporciona además un acondicionamiento comercial que comprende, en un medio de envase adecuado, (a) un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente, y (b) uno o más agentes antineoplásicos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina y 5-fluorouracil (5-FU), en el que los principios activos están presentes en cada caso en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o cualquier hidrato de los mismos, junto con instrucciones para uso simultáneo, por separado o secuencial de los mismos.

En un acondicionamiento según la invención, cada uno de los componentes (a) y (b) están presentes dentro de un medio de envase individual o dentro de distintos medios de envase.

55 Otra realización de la presente invención es un acondicionamiento comercial que comprende una composición o producto farmacéutico tal como se describió anteriormente.

60 Las actividades de la combinación de la presente invención se muestran por ejemplo mediante las siguientes pruebas *in vitro* e *in vivo*, que pretenden ilustrar pero no limitar la presente invención.

Ejemplo 1: Actividad citotóxica *in vitro* de la combinación con gemcitabina

65 Se sembraron células de carcinoma de ovario humanas A2780 que crecían exponencialmente y se incubaron a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%. Tras 24 horas, se añadieron dosis escalares del compuesto de fórmula (I) al medio durante 24 horas, se lavaron las células y se añadió gemcitabina durante 1 hora. Se lavaron entonces las células y se contaron 72 horas después del primer tratamiento. Se determinó la proliferación celular

mediante un sistema de monitorización de adenosín trifosfato celular. Se comparó la proliferación celular con células de control. Se calculó la concentración que inhibe la proliferación celular al 50% (CI₅₀).

Se calcularon los índices de combinación (I.C.) usando un programa informático para análisis del efecto de fármacos múltiples basado en la ecuación de Chou-Talalay (Adv Enzima Regul 1984;22:27- 55) para fármacos no exclusivos entre sí, en el que un I.CI. de <1 indica un efecto más que aditivo.

Los resultados obtenidos con los fármacos como agentes individuales y en combinación se muestran en la tabla 1.

10

Tabla 1: combinación *in vitro* con gemcitabina

	CI ₅₀ (μM)	I.C. al 90% de fracción afectada
Compuesto de fórmula (I)	0,419	
Gemcitabina	0,364	
Combinación (razón 1,25:1) compuesto de fórmula (I) gemcitabina	0,092 0,074	0,069

Los resultados muestran que en células tumorales humanas, el compuesto de fórmula (I) puede combinarse de manera eficaz con el agente antimetabolito gemcitabina, presentando un efecto más que aditivo (es decir sinérgico).

15 **Ejemplo 6. Eficacia antitumoral *in vivo* en combinación con 5-FU**

Se mantuvieron ratones macho Nu/Nu Balb, de Harlan (Italia), en jaulas con cubiertas de papel de filtro, alimento y lechos esterilizados y agua acidificada. Se implantaron fragmentos de carcinoma de colon humano HCT-116 por vía subcutánea en ratones atímicos. Se seleccionó este modelo tumoral porque era sensible a 5-FU y también en base al uso de este fármaco en cáncer de colon.

20

El tratamiento empezó cuando los tumores fueron palpables. Se prepararon ambos compuestos inmediatamente antes del tratamiento.

Se administró el compuesto de fórmula (I) por vía oral en un volumen de 10 ml/kg en una dosis de 20 mg/kg dos veces al día (BID) durante 2 ciclos de 6 días. Se administró 5-FU por vía intravenosa en un volumen de 10 ml/kg en una dosis de 50 mg/kg en los días 1, 8. Cuando se combina, el compuesto de fórmula (I) se administró a partir del día después de los tratamientos con 5-FU (desde el día 2 hasta el día 7 y desde el día 9 hasta el día 14). Se midieron el crecimiento tumoral y peso corporal cada 3 días. Se evaluó el crecimiento tumoral con un compas calibrador. Se registraron los dos diámetros y se calculó el peso tumoral según la siguiente fórmula: longitud (mm) x anchura²/2. Se evaluó el efecto del tratamiento antitumoral como el retraso en la aparición de un crecimiento exponencial del tumor (véase para referencias Anticancer drugs 7:437-60, 1996). Se definió este retraso (valor T-C) como la diferencia de tiempo (en días) requerida para que los tumores del grupo de tratamiento (T) y del grupo de control (C) alcanzaran un tamaño predeterminado (1 g). Se evaluó la toxicidad a base de la reducción de peso corporal. Se notificaron los resultados en la tabla 6.

35

Tabla 6 Eficacia *in vivo* en combinación con 5-FU

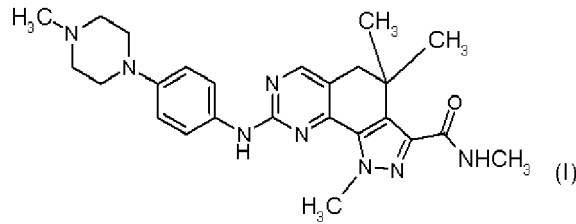
Tratamiento	T-C (días)	Toxicidad
Compuesto de fórmula (I) 20 mg/kg*	4,93	0/7
5-FU 50 mg/kg**	2,17	0/7
5-FU 50 mg/kg + Compuesto de fórmula (I) 20 mg/kg***	10,42	0/7
*Tratamientos realizados por vía oral dos veces en los días 2-7 y 9-14. **Tratamientos realizados por vía intravenosa en los días 1, 8 *** Días 1, 8: tratamientos con 5-FU, días 2-7 y 9-14: tratamientos con compuesto de fórmula (I)		

El compuesto de fórmula (I) combinado con el agente antimetabolito 5-FU presentó un claro efecto sinérgico. El T-C observado cuando el compuesto de fórmula (I) se combinó con 5-FU fue altamente superior al esperado mediante la adición sencilla del T-C obtenido mediante tratamientos individuales. No se observó toxicidad en ninguno de los grupos de tratamiento.

40

REIVINDICACIONES

1. Combinación terapéutica que comprende (a) un compuesto de fórmula (I):



y (b) uno o más agentes antineoplásicos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina y 5-fluorouracil (5-FU), en la que los principios activos están presentes en cada caso en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o cualquier hidrato de los mismos.

2. Combinación según la reivindicación 1, que es una preparación combinada para uso simultáneo, por separado o secuencial.
3. Combinación según la reivindicación 1 para su uso en un método para tratar o retrasar la evolución de cáncer, en la que el dicho método comprende la administración simultánea, secuencial o por separada de la combinación terapéutica a un sujeto que lo necesita.
4. Composición farmacéutica que comprende una combinación según la reivindicación 1, mezclada con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
5. Compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 y uno o más agentes antineoplásicos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina y 5-fluorouracil (5-FU), para su uso en un método para tratar cáncer.
6. Preparación combinada que comprende el compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 y uno o más agentes antineoplásicos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina y 5-fluorouracil (5-FU), para su uso en un método de disminución de los efectos secundarios producidos por terapia antineoplásica con un agente antineoplásico en mamíferos, incluyendo humanos, que lo necesiten, comprendiendo el método administrar a dicho mamífero la dicha preparación combinada en cantidades eficaces para producir un efecto antineoplásico sinérgico.
7. Acondicionamiento comercial que comprende, en un medio de envase adecuado, (a) un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, y (b) uno o más agentes antineoplásicos seleccionados del grupo que consiste en gemcitabina y 5-fluorouracil (5-FU) en el que los principios activos están presentes en cada caso en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o cualquier hidrato de los mismos, junto con instrucciones para uso simultáneo, por separado o secuencial del mismo.