

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 646 913**

51 Int. Cl.:

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.10.2013 PCT/EP2013/002998**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.05.2014 WO14067610**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.10.2013 E 13776720 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2017 EP 2914264**

54 Título: **Un derivado de 6-oxo-1,6-dihidro-piridazina para usar en el tratamiento del carcinoma hepatocelular (HCC)**

30 Prioridad:

02.11.2012 EP 12007494

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

18.12.2017

73 Titular/es:

**MERCK PATENT GMBH (100.0%)
Frankfurter Strasse 250
64293 Darmstadt, DE**

72 Inventor/es:

**FRIESE-HAMIM, MANJA y
BLADT, FRIEDHELM**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 646 913 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

Un derivado de 6-oxo-1,6-dihidro-piridazina para usar en el tratamiento del carcinoma hepatocelular (HCC)

CAMPO DE LA INVENCION

- 5 Esta invención está relacionada con el 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo, o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable de éste, para usar en el tratamiento del carcinoma hepatocelular (HCC).

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La invención tuvo por objeto hallar nuevas composiciones farmacéuticas con propiedades valiosas, que en particular fueran útiles para preparar medicamentos.

- 10 Más aun, el objetivo de esta invención fue hallar nuevas composiciones que fueran útiles para prevenir y tratar el carcinoma hepatocelular.

Se ha descubierto que el 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo según la invención, o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable de éste, tiene propiedades farmacológicas muy valiosas y puede ser bien tolerado.

- 15 El HCC es la quinta afección maligna más común en el mundo, con un total de 667000 nuevos casos, 17500 de los cuales se dan en Estados Unidos. 80% de los pacientes presentan una enfermedad avanzada o no resecable en el momento del diagnóstico. En los países occidentales, aproximadamente 40% de los pacientes son elegibles para un posible tratamiento curativo (resección, trasplante, ablación local), mientras que aproximadamente 20% son elegibles para una quimioembolización. En los pacientes bien seleccionados, la resección y el trasplante proveen
- 20 tasas de supervivencia después de 5 años de 70%, y 50% de los pacientes recaen en un período de 3 años. En la presente se demuestra que el 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo, o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable de éste, es activo sobre tumores de HCC con signos de señalización de c-Met activa.

- 25 Antes de la aprobación del sorafenib, no había un tratamiento sistémico eficaz para prolongar la supervivencia al HCC: los agentes citotóxicos convencionales administrados en monoterapias o regímenes combinados tenían tasas de respuesta bajas y no prolongaban la supervivencia (Thomas, M. B., O'Beirne, J. P., Furuse, J., Chan, A. T., Abou-Alfa, G., Johnson, P., Ann. Surg. Oncol., 2008, 15, (4):1008-14). Sin embargo, aunque con el sorafenib se ha prolongado la duración de la PFS, la PFS y la supervivencia en general siguen siendo limitadas. Suele surgir resistencia secundaria después de varias semanas de exposición al fármaco. Una vez que la enfermedad progresa,
- 30 actualmente no hay otras opciones terapéuticas. Debido a esta necesidad médica importante insatisfecha, se necesitan otras opciones eficaces para tratar el HCC.

ANTECEDENTES TÉCNICOS

El 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo ha sido descrito en WO 2009/006959 A1.

- 35 El hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo ha sido descrito en WO 2009/007074 A1.

RESUMEN DE LA INVENCION

- 40 La invención está relacionada con el 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo, o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable de éste, para usar en el tratamiento del carcinoma hepatocelular (HCC).

Además, la invención está relacionada con el hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo, para usar en el tratamiento del carcinoma hepatocelular (HCC).

- 45 Además, la invención está relacionada con el 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo, o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable de éste, donde el compuesto se administra en un paciente en una cantidad de entre 100 mg a 800 mg por día.

Además, las sales básicas de los compuestos según la invención abarcan, sin limitaciones, sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, hierro(III), hierro(II), litio, magnesio, manganeso(III), manganeso(II), potasio, sodio y cinc. Entre las sales mencionadas, se prefieren las sales de amonio, de los metales alcalinos sodio y potasio y de los metales alcalinotérreos calcio y magnesio. Las sales de los compuestos que se obtienen con bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables abarcan sales de aminas primarias, secundarias o terciarias, aminas sustituidas, incluyendo aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico, por ejemplo y sin limitaciones, arginina, betaína, cafeína, cloroprocaína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina (benzatina), dicitohexilamina, dietanolamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lidocaína, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina o tris(hidroxiometil)metilamina (trometamina).

Los compuestos de la presente invención que contienen grupos con átomos de nitrógeno básicos pueden ser cuaternizados con agentes como haluros de (C₁-C₄)alquilo, por ejemplo, cloruro, bromuro o yoduro de metilo, etilo, isopropilo o terbutilo; sulfatos de di(C₁-C₄)alquilo, por ejemplo, sulfato de dimetilo, dietilo o diamilo; haluros de (C₁₀-C₁₈)alquilo, por ejemplo, cloruro, bromuro o yoduro de decilo, dodecilo, laurilo, miristilo o estearilo; o haluros de aril(C₁-C₄)alquilo, por ejemplo, cloruro de bencilo o bromuro de fenetilo. Los compuestos solubles en agua o aceite según la invención pueden prepararse usando estas sales.

Entre las sales farmacéuticas mencionadas con anterioridad, se prefieren, sin limitaciones, las sales de acetato, trifluoroacetato, besilato, citrato, fumarato, gluconato, hemisuccinato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, isetionato, mandelato, meglumina, nitrato, oleato, fosfonato, pivalato, fosfato de sodio, estearato, sulfato, sulfosalicilato, tartrato, tiomalato, tosilato y trometamina.

Se prefieren especialmente las sales de clorhidrato, diclorhidrato, bromhidrato, maleato, mesilato, fosfato, sulfato y succinato.

Las sales de adición de ácida de los compuestos básicos se preparan poniendo la forma de base libre en contacto con una cantidad suficiente del ácido deseado, para formar la sal de una manera convencional. La base libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma salina con una base y aislando la base libre de una manera convencional. Las formas de bases libres difieren de las formas salinas correspondientes en determinadas propiedades físicas, por ejemplo, la solubilidad en solventes polares, aunque para los propósitos de la invención, las sales corresponden a las formas de bases libres respectivas.

Según se ha mencionado, las sales de adición básica farmacéuticamente aceptables de los compuestos se forman con metales o aminas, por ejemplo, metales alcalinos, metales alcalinotérreos o aminas orgánicas. Los metales preferidos abarcan sodio, potasio, magnesio y calcio. Las aminas orgánicas preferidas abarcan N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, N-metil-D-glucamina y procaína.

Las sales de adición básica de los compuestos ácidos según la invención se preparan poniendo en contacto la forma de ácido libre con una cantidad suficiente de la base deseada, para formar la sal de una manera convencional. El ácido libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma salina con un ácido y aislando el ácido libre de una manera convencional. Las formas de ácidos libres difieren de las formas salinas correspondientes en determinadas propiedades físicas, por ejemplo, la solubilidad en solventes polares, aunque para los propósitos de la invención, las sales corresponden a las formas de ácidos libres respectivas.

En este contexto, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se aplica a un ingrediente activo que comprende un compuesto en una forma salina, particularmente cuando esta forma salina le confiere propiedades farmacocinéticas superiores a las que podría presentar la forma libre del ingrediente activo o cualquier otra forma salina usada con anterioridad. La forma salina farmacéuticamente aceptable del ingrediente activo también puede conferirle al ingrediente activo una propiedad farmacocinética deseada que no ha tenido antes, e incluso puede tener una influencia positiva sobre su farmacodinámica, particularmente en el contexto de su eficacia terapéutica en el cuerpo.

Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse en forma de unidades de dosificación que comprenden una cantidad predeterminada del ingrediente activo. Cada unidad puede comprender, por ejemplo, entre 0,5 mg y 1 g, preferiblemente entre 1 mg y 700 mg, y más preferiblemente entre 5 mg y 100 mg de un compuesto según la invención, dependiendo de la afección que se desea tratar, el método de administración y la edad, el peso y el estado del paciente, o pueden administrarse formulaciones farmacéuticas que comprenden una cantidad preestablecida del ingrediente activo. Las formulaciones de unidades de dosificación preferidas abarcan aquellas que comprenden una dosis diaria o una dosis parcial, según se indicó con anterioridad, o una fracción apropiada de una dosis de un ingrediente activo. Además, las formulaciones farmacéuticas de este tipo pueden prepararse con procesos generalmente conocidos en la técnica farmacéutica.

5 Las formulaciones farmacéuticas pueden adaptarse para una administración por cualquier vía apropiada y deseada, por ejemplo, oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Estas formulaciones pueden prepararse con cualquier proceso conocido en la técnica farmacéutica, por ejemplo, combinando el ingrediente activo con uno o más excipientes o coadyuvantes.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para una administración oral pueden ser administradas como unidades separadas, por ejemplo, cápsulas o tabletas; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o alimentos espumosos comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

10 Así, por ejemplo, en el caso de una administración oral en forma de una tableta o una cápsula, el componente del ingrediente activo puede combinarse con un vehículo oral, no tóxico y un excipiente inerte farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, etanol, glicerol o agua. Los polvos se preparan triturando el compuesto hasta un obtener tamaño fino apropiado y mezclándolo con un excipiente farmacéutico triturado de una manera similar, por ejemplo, un hidrato de carbono comestible, tal como almidón o manitol. También puede incluirse un sabor, un conservante, un dispersante o un colorante.

15 Las cápsulas se producen preparando una mezcla en polvo según se describió con anterioridad e introduciéndola en cáscaras de gelatina con la forma apropiada. A la mezcla en polvo pueden agregársele deslizantes o lubricantes, por ejemplo, ácido silícico altamente disperso, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol en forma sólida, antes de la operación de relleno. También puede agregarse un desintegrante o un solubilizante, por ejemplo, agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento una vez tomada la cápsula.

20 De resultar deseable o necesario, también pueden incorporarse aglutinantes, lubricantes, desintegrantes o colorantes en la mezcla. Los aglutinantes apropiados abarcan almidón, gelatina, azúcares naturales, por ejemplo, glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales o sintéticas, por ejemplo, acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y ceras, entre otros. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación abarcan oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio y cloruro de sodio, entre otros. Los desintegrantes abarcan, sin limitaciones, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita y goma xantana. Las tabletas se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulándola o prensándola en seco, agregando un lubricante y un desintegrante y prensando toda la mezcla. Puede prepararse una mezcla en polvo combinando un compuesto triturado de una manera apropiada con un diluyente o una base, según se describió con anterioridad, opcionalmente con un aglutinante, por ejemplo, carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de la disolución, por ejemplo, parafina, un acelerador de la absorción, por ejemplo, una sal cuaternaria, y/o un absorbente, por ejemplo, bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. La mezcla en polvo puede granularse mojándola con un aglutinante, por ejemplo, jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de materiales de celulosa o poliméricos, y prensándola a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, la mezcla en polvo puede hacerse pasar a través de una tableteadora para obtener grumos no uniformes, los cuales pueden romperse para formar gránulos. Los gránulos pueden lubricarse agregando ácido esteárico, una sal de estearato, talco o un aceite mineral, para evitar que se adhieran a los moldes de la tableteadora. Posteriormente, la mezcla lubricada puede prensarse para obtener tabletas. Los compuestos según la invención también pueden combinarse con excipientes inertes de flujo libre y luego pueden prensarse directamente para obtener tabletas, sin pasos de granulación o prensado en seco. Puede haber una capa protectora transparente u opaca compuesta por una capa de sellado de goma laca, una capa de un azúcar o un material polimérico y una capa de cera con brillo. Pueden agregárseles colorantes a los recubrimientos poder diferenciar las unidades de dosificación.

45 Pueden prepararse líquidos orales, por ejemplo, soluciones, jarabes o elixires, en forma de unidades de dosificación, de manera tal que una cantidad determinada comprenda una cantidad preestablecida del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa con un sabor apropiado, mientras que los elixires se preparan usando un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse dispersando el compuesto en un vehículo no tóxico. También pueden agregarse solubilizantes o emulsionantes, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados o éteres de polioxietileno sorbitol, conservantes, aditivos saborizantes, por ejemplo, aceite de menta, edulcorantes naturales, sacarina u otros edulcorantes artificiales, entre otras posibilidades.

50 Si se lo desea, las formulaciones de unidades de dosificación para una administración oral pueden encapsularse en microcápsulas. La formulación también puede prepararse de manera tal de prolongar o demorar la liberación, por ejemplo, aplicando un recubrimiento o incrustando materiales particulados en polímeros, ceras o compuestos similares.

55 Los compuestos o sus sales, sus solvatos, sus tautómeros o sus estereoisómeros también pueden administrarse en forma de sistemas de liberación en liposomas, por ejemplo, vesículas unilamelares pequeñas, vesículas

unilamelares grandes o vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de diversos fosfolípidos, por ejemplo, colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

5 Los compuestos o sus sales, sus solvatos, sus tautómeros o sus estereoisómeros también pueden administrarse usando anticuerpos monoclonales como vehículos individuales a los que se unen las moléculas de los compuestos. Los compuestos también pueden unirse a polímeros solubles como vehículos para medicamentos dirigidos. Estos polímeros pueden comprender polivinilpirrolidona, copolímeros de pirano, polihidroxipropil-metacrilamidofenol, polihidroxietilaspártamidofenol o polilisina de óxido de polietileno sustituida con radicales de palmitoilo. Los compuestos pueden unirse a polímeros biodegradables apropiados para efectuar una liberación controlada del medicamento, por ejemplo, ácido poliláctico, poli-épsilon-caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poli-ortoésteres, poliacetales, polidihidroxipiranos, policianoacrilatos o copolímeros de bloques de hidrogeles reticulados o anfipáticos.

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para una administración transdérmica pueden administrarse como yesos independientes para obtener un contacto prolongado y estrecho con la epidermis del receptor. Así, por ejemplo, el ingrediente activo puede liberarse del yeso por iontoforesis, según se describe en términos generales en Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

15 Los compuestos farmacéuticos adaptados para una administración tópica pueden formularse como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, atomizaciones, aerosoles o aceites.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para una administración rectal pueden administrarse como supositorios o enemas.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para una administración nasal, donde la sustancia portadora es un sólido, comprenden un polvo grueso compuesto por partículas con un tamaño, por ejemplo, de 20-500 micrones, que se administra de manera similar al rapé, es decir, mediante una inhalación rápida a través de los conductos nasales, manteniendo el recipiente que contiene el polvo cerca de la nariz. Las formulaciones apropiadas para una administración mediante una atomización nasal o con gotas nasales, con líquidos como sustancias portadoras, abarcan las soluciones del ingrediente activo en agua o aceite.

25 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para una administración por inhalación abarcan los polvos o las neblinas de partículas finas, que pueden generarse con diversos tipos de dispensadores presurizados, con aerosoles, nebulizadores o insufladores.

30 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para una administración parenteral abarcan soluciones inyectables estériles acuosas o no acuosas que comprenden antioxidantes, amortiguadores, bacteriostáticos o solutos, merced a los cuales la formulación se torna isotónica con relación a la sangre del receptor; así como suspensiones estériles acuosas o no acuosas, que pueden comprender medios de suspensión y espesantes. Las formulaciones pueden administrarse con recipientes para una o varias dosis, por ejemplo, ampollas o viales sellados, y pueden almacenarse secas y congeladas (liofilizadas), de modo tal que solamente sea necesario agregar el líquido portador estéril, por ejemplo, agua para inyección, inmediatamente antes del uso. Según esta receta, las soluciones y las suspensiones inyectables pueden prepararse a partir de polvos, gránulos o tabletas estériles.

35 Evidentemente, además de los constituyentes mencionados con anterioridad, las formulaciones también pueden comprender otros agentes habituales en la técnica para cada tipo de formulación; por ejemplo, las formulaciones apropiadas para una administración oral pueden contener saborizantes.

40 Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto depende de diversos factores, incluyendo, por ejemplo, la edad y el peso del animal, la afección que se desea tratar y su gravedad, la naturaleza de la formulación y el método de administración, y en última instancia es determinada por el médico o el veterinario a cargo. Sin embargo, una cantidad eficaz de un compuesto según la invención generalmente está en el rango de entre 0,1 y 100 mg/kg de peso corporal del receptor (mamífero) por día, típicamente en el rango de entre 1 y 10 mg/kg de peso corporal por día. Por ende, la cantidad real por día para un mamífero adulto de 70 kg suele ser de entre 70 y 700 mg, donde esta cantidad puede administrarse como una sola dosis por día, aunque generalmente se administra mediante dosis parciales (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco o seis), de manera tal que la dosis diaria total es idéntica. Una cantidad eficaz de una sal, un solvato, un tautómero o un estereoisómero de un compuesto de la invención puede determinarse como una fracción de la cantidad eficaz del compuesto por sí solo. Puede suponerse que las otras afecciones mencionadas con anterioridad podrán ser tratadas con dosis similares.

50 El tratamiento anticanceroso definido en la presente puede aplicarse como una terapia exclusiva o puede abarcar, además de una composición de la invención, una cirugía o una radioterapia convencional.

El “tratamiento”, según se lo emplea en la presente, hace referencia al alivio total o parcial de los síntomas asociados a un trastorno o una enfermedad, la demora o la interrupción del progreso o el empeoramiento de estos síntomas o la prevención o la profilaxis de la enfermedad o el trastorno en un sujeto en riesgo de contraerlo.

5 El término “cantidad eficaz”, con relación a un compuesto, puede hacer referencia a una cantidad apropiada para aliviar total o parcialmente los síntomas asociados a un trastorno o una enfermedad, demorar o interrumpir el progreso o el empeoramiento de estos síntomas o prevenir o proveer profilaxis para una enfermedad descrita en la presente, tal como un cáncer, en un sujeto en riesgo de contraerla.

10 El término “cantidad terapéuticamente eficaz” o “terapéuticamente eficaz”, aplicado a una cantidad de un fármaco, denota que la cantidad es eficaz para tratar una enfermedad o un trastorno en un mamífero. En el caso del cáncer, una cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede disminuir la cantidad de células cancerosas; disminuir el tamaño de un tumor; inhibir (es decir, demorar hasta un cierto punto, y preferiblemente interrumpir) la infiltración de células cancerosas en los órganos periféricos; inhibir (es decir, demorar hasta un cierto punto, y preferiblemente interrumpir) la metástasis tumoral; inhibir hasta un cierto punto el crecimiento tumoral; y/o aliviar hasta un cierto punto uno o más síntomas asociados a un cáncer. Si un fármaco puede prevenir el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. Para la terapia del cáncer, la eficacia puede evaluarse, por ejemplo, determinando el tiempo que transcurre hasta el progreso de la enfermedad (TTP) y/o la tasa de respuesta (RR).

USO

20 El hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo es apropiado como ingrediente farmacéutico activo para mamíferos, especialmente para seres humanos, en el tratamiento del carcinoma hepatocelular.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

Evaluación del hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo en un modelo de xenoinjertos de HCC MHCC97H

25 Resumen: El 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo presenta una actividad mayor que el sorafenib en un modelo de xenoinjertos de hepatocarcinoma y en explantes primarios de HCC, todos los cuales se caracterizan por una expresión alta de c-Met y/o HGF. Mientras que el sorafenib indujo una pérdida sustancial de peso corporal en la mayoría de los modelos de explantes de HCC (8/9) en todas las dosis evaluadas (50 mg/kg, 5 de 7 días, y 60 mg/kg, diariamente), el hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo fue bien tolerado en todos, lo cual se manifestó como la ausencia de una pérdida de peso sustancial en los animales.

35 En función de los resultados de los estudios preclínicos realizados, se destacó la participación de c-Met en el mantenimiento y el progreso del HCC y se concluyó que la inhibición de c-Met podría ser útil para tratar el HCC. La línea celular MHCC97H fue establecida a partir de xenoinjertos subcutáneos de un modelo metastásico de HCC humano en ratones desnudos (LCI-D20) y tiende a producir metástasis en los pulmones (Wu, F. S., Zheng, S. S., Wu, L. J., Teng, L. S., Ma, Z. M., Zhao, W. H., Wu, W., *Liver Int.*, Junio de 2007; 27(5):700-7).

c-Met y HGF se expresan en las células MHCC97H, y desde ellas también se secreta la proteína fetal alfa (AFP), un antígeno glicoproteico específico del feto que se usa como marcador tumoral en el tratamiento de los pacientes con HCC.

40 El tratamiento de tumores MHCC97H subcutáneos establecidos con un crecimiento rápido con hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo inhibió completamente el crecimiento y las regresiones inducidos. En comparación con el tratamiento de xenoinjertos subcutáneos MHCC97H con hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo, la administración de sorafenib solamente dio como resultado una actividad antitumoral marginal, sin regresiones tumorales. Para evaluar el efecto de la inhibición de c-Met bajo condiciones más similares a las fisiológicas, se injertaron células MHCC97H ortotópicamente en el hígado de ratones.

50 La administración oral del hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotriilo, iniciada una semana después de la implantación de los fragmentos de tumores, tuvo una actividad antitumoral significativa e indujo una regresión completa en todos los ratones al final del tratamiento el día 35. Como criterio de valoración secundario, se evaluó el peso corporal durante el estudio. La pérdida de peso corporal en el grupo tratado con el vehículo se observó desde el día 18 en adelante, y probablemente fue causada por una mayor carga tumoral en el hígado y/o por las metástasis pulmonares. En contraste, no se observaron pérdidas de peso corporal entre los ratones tratados con el inhibidor de c-Met. Al final

del período de tratamiento, se evaluó el nivel de la AFP en la circulación. Mientras que en el grupo control se observó un nivel alto de la AFP, no se la detectó en los ratones tratados con hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo.

5 Modelo de tumores subcutáneos MHCC97H – Comparación entre monoterapias con hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo o sorafenib

10 Método: Se sometieron ratones desnudos BalB/c macho (edad: 6-8 semanas) a una inyección subcutánea de células tumorales de hígado humanas MHCC97H y se los distribuyó entre los grupos de tratamiento (diez animales por grupo) una vez establecidos los tumores (aproximadamente 500 mm³). Los grupos fueron tratados oralmente con hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo en diversas dosis (10, 30 ó 100 mg/kg) durante 5 ó 2 días o con sorafenib (50 mg/kg) diariamente. Al final del tratamiento, se calculó el valor de T/C y se observó si se habían recuperado los tumores.

15 Resultados: Todas las dosis del hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo tuvieron una actividad antitumoral significativa: indujeron la regresión de los tumores con un valor de T/C de -57%, -93% y -93%, respectivamente, y demoraron el crecimiento de los tumores (lo cual se determinó con el TGD, el tiempo transcurrido para alcanzar un volumen tumoral de 1000 mm³) 24, 53 y más de 53 días, respectivamente. El tratamiento con sorafenib estuvo asociado a una actividad antitumoral menor en comparación con MSC2156119J, con un valor de T/C de 27%.

20 Modelo ortotópico de tumores MHCC97H – Comparación entre monoterapias con hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo o sorafenib

25 Método: Se sometieron ratones desnudos BalB/c macho (edad: 7-8 semanas) a una implantación ortotópica de tumores MHCC97H (2-3 mm³) en el lóbulo izquierdo del hígado. Una semana después de la implantación intrahepática, los animales se distribuyeron entre los grupos de tratamiento (diez animales por grupo). Los grupos fueron tratados oralmente con 100 mg/kg de hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo durante 5 días, con 2 días de descanso, durante 5 semanas. Al final del tratamiento, se determinó el tamaño y el peso de los tumores y el nivel de la AFP en el plasma y se evaluaron las metástasis pulmonares.

30 Resultados: El tratamiento con hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo tuvo una actividad antitumoral significativa, que dio como resultado la regresión del tumor primario (p<0,001) y la merma de las metástasis pulmonares (p<0,01). El nivel de la AFP en el plasma de los ratones analizados al final del tratamiento también se redujo significativamente (p<0,001). El tratamiento con hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo fue bien tolerado.

35 Evaluación del hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo en explantes de HCC primarios

40 Resumen: Para estudiar el potencial terapéutico del hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo en pacientes con HCC, se evaluó la actividad del hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo en un estudio preclínico de la fase II (estudio PP2T) con explantes de HCC primarios humanos. El tratamiento de nueve explantes primarios subcutáneos establecidos dio como resultado 1/9 respuestas completas (CR), 2/9 enfermedades estables (SD) y una actividad marginal en un modelo adicional. La actividad del hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo estuvo correlacionada positivamente con el estado de activación del receptor de c-Met expresado en estos modelos, lo cual se determinó a partir del nivel de expresión de c-Met y HGF. Ninguno de los modelos con señales de señalización detectables de c-Met escasas o nulas (c-Met, nivel de fosfo c-Met y/o HGF) respondió al hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo como monoterapia, y no se observó una mejora en la actividad con una combinación con sorafenib.

45 Método: Se sometieron ratones desnudos BalB/c (edad: 6-8 semanas) a un trasplante subcutáneo con un fragmento de un tumor de HCC primario. Los animales se distribuyeron entre los grupos de tratamiento (12 animales por grupo) una vez establecidos los tumores. Los grupos fueron tratados oralmente con 100 mg/kg de hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo durante 5 de 7 días. Al final del tratamiento, se calculó el valor de T/C y se observó si se habían recuperado los tumores.

50 Resultados: El hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzonitrilo (100 mg/kg, 5 de 7 días) inhibió significativamente el crecimiento de 4 de los 9

modelos (LIM612, LIM801, LIM1098, LIM941; valor de T/C: entre 49% y -97%). El sorafenib (50 mg/kg, 5 de 7 días) presentó actividad antitumoral en 7 de los 9 modelos (LIM348, LIM612, LIM941, LIM752, LIM1098, LIM801, LIM1081; valor de T/C: entre 45% y -8%). La actividad antitumoral del hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzocitrilo fue superior a la de la monoterapia con sorafenib en LIM801 y LIM612, dos modelos con signos fuertes de señalización de c-Met. La combinación del sorafenib con el hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzocitrilo tuvo una actividad antitumoral superior a la de la monoterapia en 2 de los 9 modelos (LIM1098 y LIM752; valor de T/C: -32% y 4%, respectivamente).

Determinación del nivel de las proteínas c-Met, fosfo c-Met y HGF en explantes primarios

10 Método: Se evaluó la expresión de c-Met, fosfo c-Met y HGFalfa mediante un análisis IHC en animales que alojaban explantes de tumores primarios y xenoinjertos humanos (tabla 1). Los xenoinjertos se extirparon, se seccionaron, se fijaron en una solución de formaldehído amortiguado al 4% durante 48 horas a temperatura ambiente y se embebieron en parafina. Se montaron secciones de 3 µm de tejido fijado con formaldehído y embebido en parafina (FFPE) en portaobjetos cargados positivamente SuperFrost®Plus (Menzel-Glaser, Braunschweig, Alemania). La coloración inmunohistoquímica posterior a la desparafinación de las secciones se realizó con un instrumento de coloración Discovery™ o Discovery® XT (Ventana Medical Systems, Inc., Tucson, EEUU). Después de la desparafinación, las secciones se calentaron para recuperar los epítomos en un amortiguador de Tris-EDTA con un pH de 8. Las peroxidasa endógenas se bloquearon mediante una incubación en peróxido de hidrógeno al 3% (parte del conjunto de elementos OmniMap™, Ventana Medical Systems). Las secciones se incubaron con los anticuerpos diluidos en PBS, y luego con el anticuerpo secundario, los polímeros conjugados con HRP del conjunto de elementos OmniMap, a 37°C durante 16 minutos. La peroxidasa de rábano picante (HRP) cataliza la reacción con el tetraclorhidrato de 3,3'-diaminobencidina (DAB)/H₂O₂ para producir un precipitado marrón oscuro insoluble que puede visualizarse. Las secciones se contrastaron con hematoxilina. Los portaobjetos se lavaron con agua corriente, se deshidrataron y se cubrieron con cubreobjetos de vidrio en un medio de montaje permanente Entellan® Neu (VWR, Alemania). Los protocolos detallados del procedimiento, generados por los instrumentos de coloración, se almacenaron en Merck Serono, Darmstadt, Alemania. Las coloraciones inmunohistoquímicas se exploraron con un dispositivo MiraxSCAN (Zeiss), con una resolución x/y donde 1 píxel=0,23x0,23 µm². Las exploraciones se analizaron con el programa Visiopharm Integrator System (VIS; versión 4.0.3.0; Visiopharm A/S, Dinamarca). Se destacó el área de tejido viable y se evitaron las áreas necróticas evidentes y el tejido conectivo. Para determinar la cantidad de antígenos presentes, se calculó el área positiva para la coloración como un porcentaje del área de tejido viable. La coloración de los anticuerpos (AU) se calculó con la siguiente fórmula (en unidades arbitrarias): área positiva (%) * (255 – intensidad)/100% de color marrón.

Resultados: Con el análisis inmunohistoquímico (IHC), se detectó una expresión alta de c-Met y fosfo-Met y una expresión moderada de HGFalfa en algunos explantes de carcinoma humano hepatocelular (HCC). De 9 explantes de HCC, 8 fueron positivos para c-Met. Dos de los explantes (LIM1098 y LIM612) presentaron una expresión alta de pTyr 1234/1235 Met y pTyr 1349 Met. En 3 explantes de tumores adicionales, se observó una expresión entre baja y moderada de pTyr1349-Met. Debido a la coloración alta del fondo con el sistema para detectar el anticuerpo contra el HGF, el clon B-3 (IgG de ratón), los tumores no pudieron ser sometidos a un análisis de imágenes en varios explantes de xenoinjertos. Se aplicó una calificación semicuantitativa (C. Wilm) comparando la coloración específica anti-HGF con la coloración de una IgG control del mismo isotipo.

Calificaciones

0 = negativa

1 = baja

2 = media

45 3 = alta

Dos de los 9 explantes de HCC presentaron una expresión entre baja y moderada de HGF alfa. LIM612, con una expresión baja de HGF, fue altamente positivo para fosfo-Met. LIM801, con una expresión moderada de HGF, fue negativo para fosfo-Met.

REIVINDICACIONES

1. El 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotrilo, o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable de éste, para usar en el tratamiento del carcinoma hepatocelular (HCC).
- 5 2. El hidrato de clorhidrato de 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotrilo, para usar en el tratamiento del carcinoma hepatocelular (HCC).
3. El 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotrilo según la reivindicación 1 ó 2, donde el compuesto se administra en un paciente en una cantidad de entre 100 mg y 800 mg por día.
- 10 4. El 3-(1-{3-[5-(1-metil-piperidin-4-ilmetoxi)-pirimidin-2-il]-bencil}-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-benzotrilo según la reivindicación 1, 2 ó 3, donde el compuesto se administra por vía oral.