

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 649 965**

51 Int. Cl.:

A61K 38/45 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
C12N 9/12 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.01.2012** **PCT/GB2012/050108**
87 Fecha y número de publicación internacional: **26.07.2012** **WO12098397**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.01.2012** **E 12704527 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.08.2017** **EP 2665489**

54 Título: **Una combinación que comprende un vector adenovírico que tiene un gen timidina quinasa, ganciclovir y temozolomida para uso en el tratamiento del glioblastoma multiforme**

30 Prioridad:

18.01.2011 GB 201100804

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

16.01.2018

73 Titular/es:

GLIOTHERAPY LIMITED (100.0%)
Home Park, Grove Road
Bladon, Oxfordshire OX20 1FX, GB

72 Inventor/es:

MAATTA, ANN-MARIE;
SAMARANAYAKE, HARITHA;
PIKKARAINEN, JERE y
YLA-HERTTUALA, SEPPO

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 649 965 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

Una combinación que comprende un vector adenovírico que tiene un gen timidina quinasa, ganciclovir y temozolomida para uso en el tratamiento del glioblastoma multiforme

Campo de la Invención

- 5 Esta invención se refiere a una combinación de fármacos para el tratamiento de cáncer o de una enfermedad caracterizada por una vía de reparación de emparejamientos erróneos (MMR).

Antecedentes de la invención

- 10 La terapia génica del virus herpes simple tipo 1, timidina quinasa (HSV-tk) se basa en la enzima activadora del profármaco que convierte compuestos no tóxicos como el ganciclovir (GCV) en un metabolito tóxico. La destrucción de células por HSV-tk/GCV depende del ciclo celular, donde solo las células en división se verán afectadas. Esto es de particular ventaja en la terapia génica contra el cáncer cerebral, en la que las células tumorales que se dividen rápidamente están rodeadas por células cerebrales normales que no se dividen. La terapia por HSV-tk se describe en el documento EP1135513.

- 15 La temozolomida (TMZ, imidazoltetrazinona) es un agente alquilante oral que puede atravesar la barrera hematoencefálica (BBB). Temozolomida es un agente alquilante oral que es un derivado de la dacarbazina. TMZ se hidroliza espontáneamente a pH fisiológico a su forma activa 3-metil- (triazen-1-il) imidazol-4 carboxiamida (MTIC). El modo primario de citotoxicidad es agregar un grupo metilo en posición O⁶ de guanina (O⁶-mG).

- 20 O⁶-mG por sí solo no es tóxico para las células. Sin embargo, O⁶-mGs se volverán citotóxicos como resultado de ciclos repetidos de esfuerzos inútiles en la reparación por la vía de reparación de emparejamientos erróneos (MMR). Esto finalmente conducirá a roturas de cadenas de ADN. Se sabe que una vía de MMR funcional es esencial para hacer que las células sean sensibles a TMZ, en ausencia de una vía de reparación activa de MGMT (que ocurre en el 50% de los gliomas malignos). Además, los defectos en la vía de MMR pueden contribuir a una resistencia de casi 100 veces a los agentes alquilantes tales como TMZ.

- 25 Un documento de Rainov et al (Cancer Gene Therapy, Vol 8, No 9, 2001: pp 662-668) informa algunos experimentos sobre la combinación de la terapia génica HSV-tk/GCV y la quimioterapia TMZ, pero los datos no muestran ninguna evidencia convincente de sinergia.

Sumario de la invención

- 30 La presente invención se basa en el descubrimiento de que la terapia génica HSV-tk aumenta la expresión génica de las proteínas de la vía clave de reparación de emparejamientos erróneos (MMR), concretamente MSH2 y MLH1. Esto condujo al descubrimiento de que la terapia génica HSV-tk/GCV sensibiliza las células a agentes quimioterapéuticos, como la temozolomida (TMZ).

- 35 Un estudio diseñado por los inventores confirmó que una combinación de terapia génica de vector/profármaco (como HSV-tk/GCV) y un agente citotóxico, ha mejorado mucho la eficacia en ciertas enfermedades (se ensayó el cáncer, pero se cree que esto se aplica a todas las enfermedades que se caracterizan por una vía de MMR alterada), en comparación con el uso de cualquiera de los componentes solos, es decir, quimioterapia o terapia génica de vector/profármaco.

- 40 También se descubrió que el protocolo de administración de estos componentes es clave para el sorprendente efecto técnico observado en la invención, es decir, la sinergia. Los inventores han descubierto que la regulación al alza de la ruta de MMR por terapia génica de vector/profármaco tarda aproximadamente 2 días y dura un máximo de 7 días después de suspender la terapia con profármaco. Por lo tanto, para ver la sinergia es necesario comenzar a administrar el agente citotóxico a más tardar 7 días después de terminar la terapia profármaco.

Además, cuando la afección a tratar se caracteriza por una ruta de MMR deteriorada, se cree que puede lograrse un beneficio terapéutico administrando solo la terapia génica de vector/profármaco.

- 45 En un primer aspecto, la presente invención se caracteriza por un nuevo régimen de dosificación. Por lo tanto, de acuerdo con un primer aspecto, la presente invención es un agente que comprende un vector que tiene un gen funcional, un profármaco que puede convertirse en un agente citotóxico mediante un producto de expresión del gen y otro agente citotóxico, como una preparación combinada para uso simultáneo, secuencial o por separado en la terapia de cáncer o de una enfermedad caracterizada por una ruta de reparación de emparejamiento erróneo (MMR), donde el régimen de dosificación comprende comenzar la terapia con profármaco después de que se administró el vector y comenzar la terapia con otro agente citotóxico a más tardar 7 días después de que la terapia profármaco haya terminado.

Según un segundo aspecto, la presente invención es un agente que comprende un vector que tiene un gen funcional y un profármaco que puede convertirse en un agente citotóxico mediante un producto de expresión del gen, como

una preparación combinada para uso simultáneo, secuencial o por separado, en la terapia de una enfermedad caracterizada por una ruta de reparación de emparejamiento erróneo (MMR).

De acuerdo con un tercer aspecto, un método para tratar el glioblastoma multiforme, comprende los pasos de:

a. Diagnosticar en un paciente humano glioblastoma multiforme;

5 b. Identificar en dicho paciente al menos un tumor de glioblastoma multiforme;

c. Reseccionar dicho tumor glioblastoma multiforme para eliminar al menos parte de dicho tumor glioblastoma multiforme y exponer el tejido del lecho tumoral;

10 d. Administrar a dicho tejido del lecho tumoral un vector adenovírico AdHSV-*tk* que tiene un gen que codifica la timidina quinasa, por lo que dicho vector adenovírico AdHSV-*tk* transfecta dicho tejido del lecho tumoral y dicho tejido del lecho tumoral expresa dicho gen que codifica la timidina quinasa;

e. Entre aproximadamente 5 y aproximadamente 19 días después de administrar dicho vector adenovírico a dicho paciente humano, administrar además a dicho paciente humano ganciclovir;

f. Administrar a dicho paciente humano temozolomida *per os* o por infusión intravenosa.

La invención se define en las reivindicaciones.

15 Descripción de las figuras

La Figura 1 muestra el volumen medio del tumor en los días 28 y 42 para diferentes regímenes de dosificación de HSV-*tk*/GCV y TMZ.

La Figura 2 muestra la tasa de supervivencia para diferentes regímenes de dosificación de HSV-*tk*/GCV y TMZ.

Descripción de las realizaciones preferidas

20 La presente invención requiere la administración de un vector que tiene un gen funcional, y un profármaco que se puede convertir mediante un producto de expresión de ese gen, en un agente citotóxico. Preferiblemente, el gen funcional es un gen de timidina quinasa funcional. Preferiblemente, el profármaco es ganciclovir o sus análogos. Se entenderá que la terapia con profármaco debe comenzar después de que el vector haya sido administrado. Preferiblemente, el profármaco se administra de 5 a 19 días después de la administración del vector.

25 Alternativamente, genes suicidas tales como la citosina desaminasa, el citocromo P450, la E. coli purina nucleósido fosforilasa y la carboxipeptidasa G2 son adecuados para usar en la invención. Esos genes suicidas se pueden usar en combinación con profármacos adecuados, como 5-fluorocitosina, ciclofosfamida, 6-metilepurina o F-araAMP o ácido 4-benzoil-L-glutámico (CMDA) o sus análogos químicos, respectivamente. En una realización, el gen suicida, es decir, el vector, es citosina desaminasa, y el profármaco es 5-fluorocitosina que es adecuado para usar en la invención.

30 El vector preferiblemente se administra localmente. Cuando la terapia es de un tumor canceroso, por ejemplo, el vector puede administrarse directamente en ese tumor canceroso. Alternativamente, puede ser preferible eliminar quirúrgicamente el tumor canceroso, y luego administrar el vector en la pared de la cavidad del tumor.

35 Como se usa en el presente documento, la expresión "pared de la cavidad del tumor" significa el área de tejido aparentemente sano (es decir, tejido aparentemente sano para el ojo de un cirujano) que permanece una vez que se elimina un tumor (o parte de ese tumor). Aunque el tejido sea aparentemente sano, puede contener células malignas. La expresión "pared de la cavidad del tumor" se refiere a un área de masa no tumoral.

40 Preferiblemente, la resección del tumor es lo más completa posible, es decir, más del 90%, 95% o 98%. En una realización preferida, el vector se administra mediante inyección de aproximadamente 1 cm (preferiblemente entre 0,5 cm y 5 cm, más preferiblemente entre 0,8 cm y 3 cm) de profundidad en la pared de la cavidad del tumor. Esto asegura que el vector se encuentre en tejido sano, es decir, se dirige principalmente a células sanas (aunque se aprecia que algunas células malignas pueden residir en esa área de tejido aparentemente sano).

El vector que se usa para transferir el gen puede ser cualquier vector viral. Sin embargo, se prefiere que se derive de un adenovirus o un lentivirus. Más preferiblemente, se deriva de adenovirus.

45 La presente invención es una terapia de combinación, que comprende la administración de un vector de terapia génica, un profármaco y un agente citotóxico. El agente citotóxico es preferiblemente diferente del agente citotóxico que resulta de la conversión del profármaco (por ejemplo, la conversión del ganciclovir), pero por lo demás la naturaleza exacta del agente citotóxico no es crucial, pero preferiblemente debe ser un fármaco cuya función esté alterada por la ruta alterada de MMR. Algunos agentes citotóxicos preferidos son:

50 a) agentes de cloroetilación tales como carmustina, lomustina, fotemustina, nimustina, ranimustina o estreptozocina;

- b) un agente alquilante no clásico tal como procarbazona;
- c) una triazina metilante tal como temozolomida, dacarbazina, altretamina o mitobronitol;
- d) un agente de reticulación de ADN tal como cisplatino, carboplatino, nedaplatino, oxaliplatino, triplatino, tetranitrato o satraplatino;
- 5 e) un inhibidor de topoisomerasa II tal como doxorubicina, epirubicina, aclarrubicina, daunorubicina, idarrubicina, amrubicina, pirarubicina, valrubicina o zorubicina, mitoxantrona o pixantrona;
- f) un inhibidor de topoisomerasa I tal como topotecan, camptoteseína, irinotecan, rubitecan o belotecan;
- g) un antimetabolito (análogo de pirimidina) tal como 5-FU, capecitabina, tegafur, carmofur, floxuridina o citarabina;
- h) un antimetabolito (análogo de purina) tal como 6-tioguanina o mercaptopurina; o

- 10 i) un agente alquilante de ADN citotóxico.

El agente citotóxico más preferido es la temozolomida (TMZ).

Para la sinergia entre el vector/profármaco/citotóxico, es necesario que la ruta de MMR esté regulada positivamente, y por lo tanto, el protocolo de administración/régimen de dosificación es clave.

- 15 Como se usa en el presente documento, "terapia citotóxica" y "terapia profármaco" significan los regímenes de dosificación citotóxica y profármaco, cursos de tratamiento. Esas terapias son para un período específico de tiempo. El vector, sin embargo, solo necesita administrarse una vez.

- 20 Preferiblemente, la terapia con otro agente citotóxico comienza a más tardar 7 días después de que haya finalizado la terapia con profármacos. Más preferiblemente, la terapia con agentes citotóxicos comienza a más tardar 6, 5, 4, 3, 2 o 1 día después de que haya finalizado la terapia con profármacos. Preferiblemente, la terapia con agentes citotóxicos comienza menos de 1 día después de que termine la terapia con profármacos.

Para evitar dudas, se incluye dentro del alcance de la invención tanto la situación en donde la terapia citotóxica se inicia inmediatamente después de que haya finalizado la terapia con profármaco, como la situación donde la terapia citotóxica se inicia antes de que haya finalizado la terapia con profármaco (es decir, hay un período de administración simultánea).

- 25 La terapia citotóxica y la terapia profármaco se pueden iniciar al mismo tiempo. Aunque, preferiblemente, la terapia con agente citotóxico comienza no antes de 2 días después de que comience la terapia con profármaco. Esto permite la administración más eficiente, ya que el citotóxico y el profármaco se combinan solo una vez que la ruta de MMR ha sido regulada positivamente. Este es el régimen de dosificación más eficiente.

- 30 Preferiblemente, la terapia con profármaco y la terapia con otro agente citotóxico se superponen. Más preferiblemente, las terapias se solapan durante al menos 3 días. Más preferiblemente, se solapan durante al menos 7, 10, 14 o 18 días.

Preferiblemente, la terapia de profármaco dura de 10 a 20 días. Más preferiblemente, dura de 11 a 19, de 12 a 18 o de 13 a 17 días. Preferiblemente, dura 14 días.

- 35 En una realización preferida, la terapia con profármaco comienza de 2 a 5 días después de la administración del vector (transferencia génica). Más preferiblemente, la terapia con profármaco comienza a los 5 días después de la transferencia génica.

Preferiblemente, la otra terapia citotóxica debe comenzar como muy pronto a los 2 días después de iniciar la terapia con profármaco, y a más tardar a los 7 días después de suspender la terapia con profármaco.

- 40 El otro tratamiento con agentes citotóxicos debería comenzar no antes que simultáneamente con el comienzo de la terapia profármaco. Se apreciará que se prefiere que la terapia con otro agente citotóxico comience no antes de 2 días después del comienzo de la terapia con profármaco.

- 45 La regulación positiva de la ruta de MMR es clave para la invención. Por lo tanto, se apreciará que el agente de la invención es útil en el tratamiento de un cierto número de afecciones. Ejemplos de esas afecciones son cáncer, queratosis actínica, retinopatía diabética del pterigión, aterosclerosis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, artritis reumatoide, síndrome de pseudoexfoliación del ojo y enfermedad de Alzheimer.

La terapia más preferida es de cáncer. Preferiblemente, la terapia es de un tumor canceroso, tal como un glioma maligno, o un tumor de la próstata. Un agente de la invención se puede usar en la terapia de un cáncer caracterizado por una ruta de MMR normal o alterada.

En una realización preferida adicional, un agente de acuerdo con la presente invención, cuando se usa para tratar un tumor canceroso, también incluye la administración de radiación. La radiación se administra preferiblemente después de la administración del vector y el profármaco, y la radioterapia preferiblemente comienza al mismo tiempo que el agente quimioterapéutico citotóxico (preferiblemente, la terapia es simultánea).

5 El siguiente estudio ilustra la presente invención.

Estudio

Se realizó un estudio sobre la tasa de crecimiento tumoral en un modelo de glioma de rata. Hubo 6 grupos de pacientes. Los detalles de los agentes administrados y el régimen de dosificación se muestran en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1

Grupo	n	Protocolo (d)					
		Verificación por MRI	Transferencias de genes	Hueco	GCV	Hueco	TMZ
1. Control	7	0	-	-	-	-	-
2. TMZ	10	0	-	-	-	-	5-9
3. AdHSV-tk + GCV	18	0	1	4	5-11	-	-
4. AdHSV-tk + GCV + TMZ (hueco)	18	0	1	4	5-11	5	17-21
5. AdHSV-tk + GCV + TMZ (bb)	7	0	1	-	2-9	-	9-13
6. AdHSV-tk + GCV + TMZ (sim)	7	0	1	4	5-18	-	14-18

Los resultados se muestran en la Figura 1. El grupo 5 muestra la mayor disminución en el tamaño del tumor.

Un segundo estudio se realizó en el modelo de glioma de rata en relación con las tasas de supervivencia. Los datos (Figura 2) muestran que el Grupo 6 tuvo la tasa de supervivencia más larga, seguido de cerca por el grupo 5. Esto condujo en parte a los inventores a idear el régimen de dosificación de la invención (ya que un ligero solapamiento de profármaco/terapia citotóxica es beneficioso).

REIVINDICACIONES

1. Un agente que comprende un vector adenovirico AdHSV-*tk* que tiene un gen de timidina quinasa funcional, ganciclovir como profármaco que puede convertirse en un agente citotóxico por un producto de expresión del gen y temozolomida como otro agente citotóxico, como una preparación combinada para uso simultáneo, secuencial o por separado en la terapia del tumor de glioblastoma multiforme humano, en donde dicho tumor de glioblastoma multiforme se resecciona para eliminar al menos parte de dicho tumor y el régimen de dosificación comprende comenzar la terapia con otro agente citotóxico después de la terapia de vector viral y al menos parte de dicha terapia de profármaco se ha administrado y la expresión génica de las proteínas clave de reparación de emparejamientos erróneos MSH2 y MLH1 está aumentada y comienza la terapia con otro agente citotóxico a más tardar 7 días después de que haya finalizado la terapia con profármacos.
2. Un agente para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la terapia con otro agente citotóxico comienza no antes de 2 días después de que comience la terapia con profármaco.
3. Un agente para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la terapia con profármaco y la terapia con otro agente citotóxico se superponen.
4. Un agente para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que las terapias se solapan durante al menos 3 días.
5. Un agente para uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que la terapia con profármaco dura de 10 a 20 días.
6. Un agente para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el vector se administra en la pared de la cavidad del tumor, preferiblemente a una profundidad de aproximadamente 1 cm.
7. Un agente para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que adicionalmente incluye la administración de radiación al tumor.
8. Un agente de combinación que comprende un vector adenovirico AdHSV-*tk* que tiene un gen de timidina quinasa funcional, y ganciclovir como un profármaco que puede convertirse en un agente citotóxico por un producto de expresión del gen y temozolomida como otro agente citotóxico, como una preparación combinada para uso simultáneo, secuencial o separado en el terapia de un tumor de glioblastoma multiforme humano, en el que dicho vector viral y profármaco se administran en una cantidad suficiente para aumentar la expresión génica de las proteínas clave de reparación del emparejamiento erróneo MSH2 y MLH1 y en donde se administran los otros agentes citotóxicos mientras se incrementa dicha expresión.
9. Un agente de combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicho vector viral comprende un vector adenoviral AdHSV-*tk* que tiene un gen que codifica la timidina quinasa.
10. Una combinación de un vector adenovirico AdHSV-*tk*, ganciclovir y temozomida para uso en el método de tratamiento de glioblastoma multiforme humano, comprendiendo dicho método los pasos de:
 - a. diagnosticar en un paciente humano glioblastoma multiforme;
 - b. identificar en dicho paciente al menos un tumor de glioblastoma multiforme;
 - c. reseccionar dicho tumor glioblastoma multiforme para eliminar al menos parte de dicho tumor glioblastoma multiforme y exponer el tejido del lecho tumoral;
 - d. administrar a dicho tejido del lecho tumoral un vector adenovirico AdHSV-*tk* que tiene un gen que codifica la timidina quinasa, por lo que dicho vector adenovirico AdHSV-*tk* transfecta dicho tejido de lecho tumoral y dicho tejido de lecho tumoral expresa dicho gen que codifica la timidina quinasa;
 - e. dentro de los 5 días después de administrar dicho vector adenovirico a dicho paciente humano, administrar adicionalmente a dicho paciente humano ganciclovir;
 - f. administrar a dicho paciente humano temozolomida después de dicho vector adenovirico *per os* o por infusión intravenosa.
11. La combinación para uso de la reivindicación 10, en la que dicho glioblastoma multiforme es glioblastoma multiforme recurrente.
12. La combinación para uso de las reivindicaciones 10 u 11, en la que dicha temozolamida se administra en una pluralidad de ciclos de 28 días, comprendiendo cada ciclo la administración de una dosis de 150 mg/m² al día durante los días 1 a 5 de dicho ciclo de 28 días, seguido de una dosis de 0 mg/m² al día durante los días 6-28 de dicho ciclo de 28 días.

13. La combinación para uso de la reivindicación 12, en la que dicha pluralidad de ciclos de 28 días está precedida por un período de 42 días en el que se administra temozolamida a una dosis de 30 mg de 75 mg/m² al día.

14. La combinación para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en la que dicha administración de temozolomida se inicia no antes que la administración de ganciclovir.

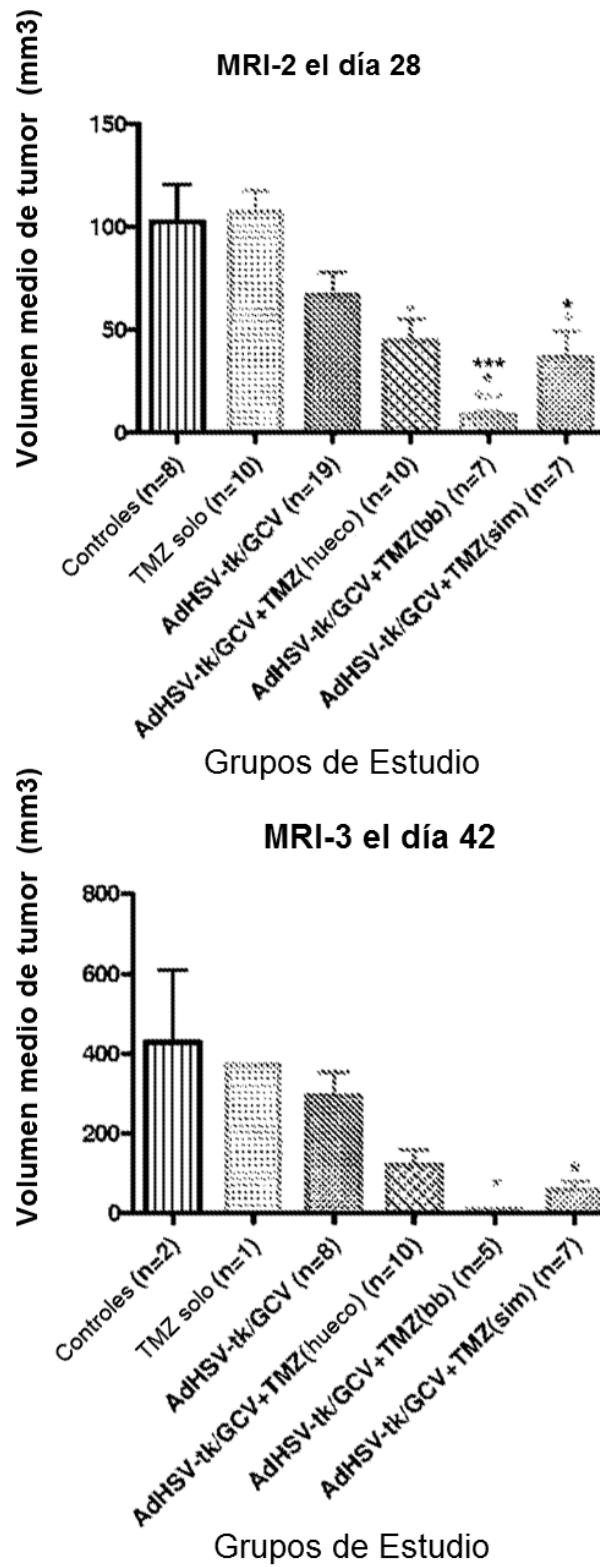


Figura 1

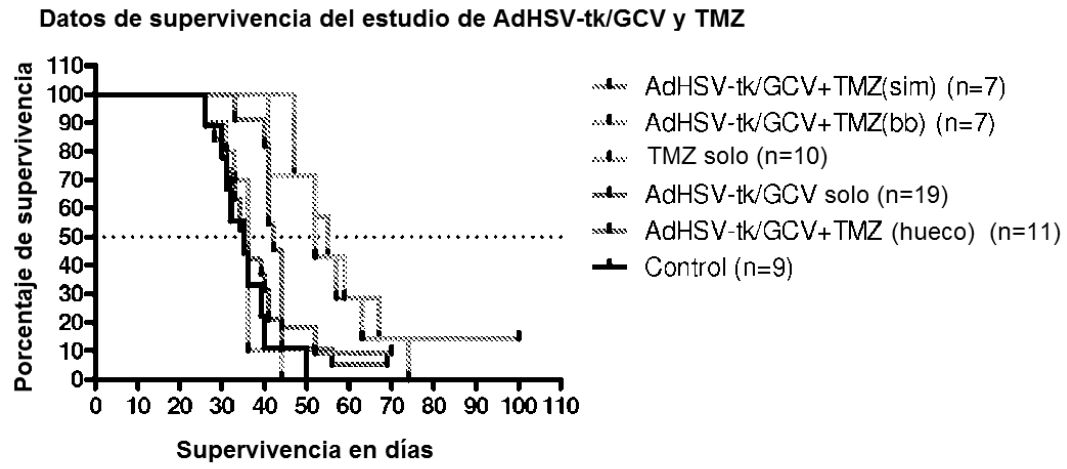


Figura 2