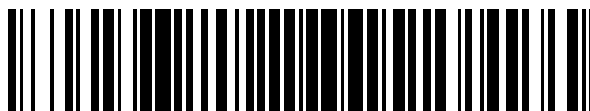


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 653 990**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/5517** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.08.2013 PCT/US2013/054818**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.02.2014 WO14028547**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.08.2013 E 13750830 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017 EP 2884983**

54 Título: **Benzodiazepinas para tratamiento del cáncer de pulmón de células pequeñas**

30 Prioridad:

**16.08.2012 US 201261683811 P**  
**23.04.2013 US 201361814886 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**09.02.2018**

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)**  
**251 Little Falls Drive**  
**Wilmington, DE 19808, US**

72 Inventor/es:

**BARBASH, OLENA, I y**  
**TUMMINO, PETER, JOHN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 653 990 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

Benzodiazepinas para tratamiento del cáncer de pulmón de células pequeñas

### Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un compuesto de benzodiazepina y a su uso en el tratamiento del cáncer, en particular, cáncer de pulmón de células pequeñas.

### Antecedentes de la invención

10 El cáncer de pulmón es una enfermedad caracterizada por un crecimiento descontrolado de células en los tejidos del pulmón. Los principales tipos de cáncer de pulmón son el cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) y el cáncer de pulmón de células pequeñas (CPCP). El cáncer de pulmón de células pequeñas, aunque es menos común, es la forma más agresiva de cáncer de pulmón, y casi todos los casos se deben al consumo de cigarrillos. El carcinoma de pulmón de células pequeñas generalmente comienza como células cancerosas pequeñas en los bronquios, pero estas crecen muy rápidamente para crear tumores grandes, que se dispersan rápidamente a otras partes del cuerpo, tales como el cerebro, el hígado y/o los huesos. El carcinoma de pulmón de células pequeñas se trata típicamente con una combinación de quimioterapia y radioterapia.

15 Las solicitudes de patentes WO2011/054553 y WO2011054845 desvelan el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida como un inhibidor de bromodominio de la familia BET y describe usos terapéuticos del mismo.

### Sumario de la invención

20 En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas.

25 En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para tratar el cáncer de pulmón de células pequeñas en una persona que lo necesita, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas.

30 En un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona un producto farmacéutico de combinación que comprende 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma junto con uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales adecuados para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas.

### Descripción de los dibujos

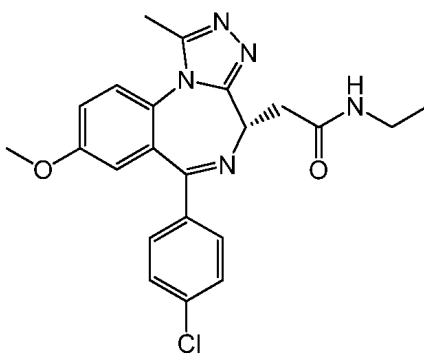
35 Figura 1: que muestra que el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida atenúa el crecimiento/supervivencia de las líneas celulares de CPCP y los modelos de tumores primarios *in vitro*.

Figura 2: que muestra que el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida induce la muerte de las células en un subconjunto de líneas celulares de CPCP.

40 Figura 3: que muestra la eficacia y la actividad farmacodinámica *in vivo* del compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida en un xenoinjerto de CPCP de ratón.

### Descripción detallada de la invención

45 La presente invención se refiere a 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida, es decir, el compuesto de fórmula (I)



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer de pulmón de células pequeñas.

5 Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas son familiares para los expertos en la técnica (véase Berge y col., J. Pharm. Sci., 66:1-19, (1977)) y ejemplos específicos de los cuales se describen adicionalmente en el documento WO2011/054553. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden ser estequiométricas o no estequiométricas.

En una realización, 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida está en forma de una base libre.

10 Se apreciará además que 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma podría estar en cualquier forma solvatada (p. ej., hidratada) y/o polimorfa de la misma.

15 El compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede preparar de acuerdo con los procedimientos descritos en la solicitud de patente WO2011/054553 o mediante procedimientos similares a la misma.

20 En un aspecto de la invención, se proporciona una composición para el tratamiento del cáncer de pulmón de células pequeñas en una persona que lo necesita, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

25 También se desvela un procedimiento para tratar la leucemia mielógena aguda en una persona que lo necesita, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En particular, se proporciona un procedimiento para tratar a un paciente humano con un diagnóstico de leucemia mielógena aguda en recaída y/o refractaria.

En una realización, la persona que lo necesita es un ser humano.

30 Tal como se usa en el presente documento, la expresión «cantidad terapéuticamente eficaz» significa cualquier cantidad que, en comparación con una persona correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da como resultado una mejoría del tratamiento, cicatrización, prevención, o una mejora de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución de la velocidad de avance de una enfermedad o un trastorno. La expresión también incluye dentro de su ámbito, cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal.

35 Se proporciona además el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del cáncer de pulmón de células pequeñas. También se desvela el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la leucemia mielógena aguda.

40 El compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo también puede usarse en el tratamiento de uno o más cánceres seleccionados entre cáncer cerebral (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, cáncer de mama, cáncer de mama inflamatorio, cáncer colorrectal, carcinoma de la línea de media de NUT, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rabdomiosarcoma, endimoma, meduloblastoma, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de pulmón de

células no pequeñas, cáncer de hígado, melanoma, carcinoma de células escamosas, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de sarcoma, osteosarcoma, tumor de células gigantes de hueso, cáncer de tiroides, leucemia linfoblástica de células T, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrofílica crónica, leucemia linfoblástica aguda de células T, plasmacitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células del manto, mieloma múltiple, leucemia megacarioblástica, leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, leucemia de linaje mixto, eritroleucemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkins, linfoma no Hodgkin (p. ej., linfoma de doble golpe (Bcl2, Myc)), linfoma linfoblástico de células T, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer de vulva, cáncer de cuello de útero, cáncer de endometrio, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de glándulas salivales, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer bucal, cáncer de la boca, GIST (tumor del estroma gastrointestinal) y cáncer de testículos.

En particular, se describe el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la leucemia mielógena aguda (también conocida como leucemia mieloide aguda o LMA).

Si bien es posible que para su uso en terapia, 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida así como sus sales farmacéuticamente aceptables se pueda administrar como producto químico bruto, es común presentar el principio activo como una composición farmacéutica con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En un aspecto adicional, se describe una composición farmacéutica que comprende 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso en el tratamiento de uno o más tipos de cáncer como se desvela en el presente documento. En una realización particular se proporciona una composición farmacéutica que comprende 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas. Además, se divulga una composición farmacéutica que comprende 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso en el tratamiento de la leucemia mielógena aguda.

Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para su administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, inhalada, intranasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). En una realización, la composición farmacéutica está adaptada para su administración oral.

Los procedimientos adecuados para la formulación de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma incluyen los descritos en la solicitud de patente WO2011/054553 y/o los procedimientos que son familiares para los expertos en la técnica, que se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª Edición, 2006.

Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de principio activo por dosis unitaria. Las composiciones de dosificación unitaria preferentes son aquellas que contienen una dosis o subdosis diaria, o una fracción apropiada de las mismas, de un principio activo. Por lo tanto, dichas dosis unitarias pueden administrarse más de una vez al día. Las composiciones de dosificación unitaria preferentes son aquellas que contienen una dosis o subdosis diaria (para la administración más de una vez al día), como se ha relatado anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de las mismas, de un principio activo.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma dependerá de un número de factores que incluyen, por ejemplo, la edad y el peso del animal, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración, y en última instancia quedará a discreción del médico o veterinario encargado. En la composición farmacéutica, cada unidad de dosificación para la administración oral o parenteral contiene preferentemente de 0,01 a 3000 mg, más preferentemente 0,5 a 1000 mg, incluso más preferentemente 1,0 a 100 mg del compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo calculada como la base libre. Cada unidad de dosificación para la administración nasal o inhalada contiene preferentemente de 0,001 a 50 mg, más preferentemente 0,01 a 5 mg, calculada como la base libre.

El compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden administrarse en una dosis diaria (para un paciente adulto) de, por ejemplo, una dosis oral o parenteral de 0,01 mg a 3000 mg por día o 0,5 a 1000 mg por día, o una dosis nasal o inhalada de 0,001 a 50 mg por día o 0,01 a 5 mg por día, del compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida, calculada como la base libre. Esta cantidad se puede proporcionar en una sola dosis por día o más generalmente en un número (tal como dos, tres, cuatro, cinco o seis) de subdosis por día de tal manera que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad eficaz de

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede determinar como una proporción de la cantidad eficaz del compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en sí.

5 Para su uso en la terapia anterior, el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede emplear solo o en combinación con agentes terapéuticos adicionales. Por lo tanto, en un aspecto adicional se proporciona un producto farmacéutico de combinación que comprende 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma  
10 junto con uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales adecuados para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas.

Ejemplos de dichos agentes terapéuticos adicionales se describen en Cancer Principles and Practice of Oncology de V.T. Devita y S. Hellman (editores), 6ª Edición (2001), editorial Lippincott Williams & Wilkins. Un experto habitual en la técnica podría discernir qué combinaciones de agentes serían útiles basándose en las características particulares de los fármacos y el cáncer implicado. Otros agentes terapéuticos a usar en combinación con el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo incluyen, aunque no de forma limitativa, agentes anti-microtúbulos (tales como diterpenoides y alcaloides de la vinca); complejos de coordinación de platino; agentes alquilantes (tales como mostazas de nitrógeno, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosoureas y triazenos); agentes antibióticos (tales como antraciclinas, actinomicinas y bleomicinas); inhibidores de la topoisomerasa II (tales como epipodofilotoxinas);  
15 antimetabolitos (tales como análogos de purina y pirimidina y compuestos anti-folato); inhibidores de la topoisomerasa I (tales como camptotecinas; hormonas y análogos hormonales); inhibidores de la vía de transducción de señales (tales como inhibidores del receptor de la tirosina); inhibidores de la angiogénesis de la tirosina quinasa no receptores; agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos; moduladores epigenéticos o transcripcionales (tales como inhibidores de la histona deacetilasa) e inhibidores de señalización del ciclo celular.

25 El compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el agente o agentes terapéuticamente activos adicionales se pueden administrar juntos o por separado y, cuando se administran por separado, esto puede ocurrir por separado o secuencialmente en cualquier orden (por la misma o por diferentes vías de administración). Las cantidades de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y el agente o agentes terapéuticamente activos  
30 adicionales y los momentos relativos de administración se seleccionarán con el fin de conseguir el efecto terapéutico combinado deseado.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

35 **Una formulación farmacéutica de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida adecuada para la administración oral**

A continuación, se muestran en la tabla formulaciones representativas que comprenden 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida (referenciada como Compuesto A) para su uso en la presente invención.

Componente	Cantidad mg/comprimido (% p/p)			
	1	10	30	100
Potencia del comprimido				
Compuesto A	1 (1 %)	10 (10 %)	30 (10 %)	100 (20 %)
Celulosa	94,5	85,5	256,5	376,5
microcristalina	(94,5 %)	(85,5 %)	(85,5 %)	(75,3 %)
Croscarmelosa de sodio	4 (4 %)	4 (4 %)	12 (4 %)	20 (4 %)
Estearato de magnesio	0,5 (0,5 %)	0,5 (0,5 %)	1,5 (0,5 %)	2,5 (0,5 %)
Dióxido de silicio coloidal	-	-	-	1 (0,2 %)
Peso total del comprimido (mg)	100	100	300	500

**Procedimientos de prueba biológicos**

40 **Ensayo de crecimiento de células**

El compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-

etilacetamida se probó en un ensayo de proliferación de 6 días por procedimientos análogos a los descritos en la solicitud de patente WO2011054845 usando un estudio de panel de 38 líneas de cáncer de pulmón de células pequeñas. Se descubrió que el compuesto tenía un  $gIC_{50}$  en el intervalo 109-29326 nM (mediana de 1461 nM) con 33 de las 38 líneas que mostraban una  $gIC_{50} < 10000$  nM (véase la Figura 1a).

- 5 Estos datos demuestran que 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida inhibió el crecimiento de células en la gran mayoría de las líneas de cáncer de pulmón de células pequeñas.

#### **Ensayo de formación de colonias de CPCP en agar suave**

- 10 Las células de CPCP se colocaron en placas en un medio de agar suave a baja densidad y se cultivaron en presencia del compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida durante 21 días, después de lo cual la capacidad de formación de colonias se analizó por microscopía. Estos datos se proporcionan en las Figuras 1b-d que demuestran que el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida atenúa la capacidad de formación de colonias de líneas de células de CPCP y modelos de CPCP derivados de pacientes.

#### **Ensayo de activación de la caspasa 3/7**

- 15 Uno de los mecanismos moleculares de la inhibición de BET en los modelos de CPCP es la inducción de la actividad de la caspasa 3/7, la escisión posterior de PARP y la acumulación de células en la fase subG1 del ciclo celular. Las células se trataron con DMSO o el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida durante 3 días y los lisados de células se analizaron por  
 20 inmunotransferencia usando anticuerpos que reconocen caspasa-3/caspasa-3 escindida y PARP escindida. Los datos obtenidos se muestran en la Figura 2 con análisis de transferencia Western de la activación de la Caspasa 3/7 y escisión de PARP (véase la Figura 2a), ensayo de la actividad de la caspasa 3/7 en un estudio de panel de líneas de CPCP 3 días después del tratamiento (ver la Figura 2b) y tinción con yoduro de propidio/análisis FACS de las  
 25 células tratadas con el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida (véase la Figura 2c).

Estos datos indican que el compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida induce la muerte de las células en líneas celulares de CPCP.

#### **Modelo de xenoinjerto de CPCP de ratones**

- 30 La atenuación del crecimiento y la inducción de las vías de muerte celular también se observaron en un modelo de xenoinjerto de ratón subcutáneo de CPCP *in vivo* (línea celular NCI-H526), en el que el tratamiento con 25 mg/kg de CD del compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida redujo el crecimiento del tumor en un 70 % (véase la Figura 3a), y se demostró que inducía la expresión de la proteína p21 y la activación de la caspasa medida por un ensayo de inmunquímica basado en anticuerpos (véase la Figura 3b). Estos datos son consecuentes con los datos *in vitro*. También se observaron  
 35 cambios dependientes de la dosis en la expresión del gen diana (SRC) (véase la Figura 3c) en un experimento de dosis única de PK/PD en el modelo de xenoinjerto (NCI-H526) de CPCP. La respuesta a la dosis medida, con  $ED_{50} = 7,1$  mg/kg, proporciona datos preclínicos para la proyección de una dosis biológicamente eficaz en pacientes humanos.

**REIVINDICACIONES**

1. El compuesto 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazepin-4-il]-*N*-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas.
- 5 2. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, que está en forma de una base libre.
3. Una composición farmacéutica que comprende 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazepin-4-il]-*N*-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas.
- 10 4. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, que está adaptada para administración oral.
5. Un producto farmacéutico de combinación que comprende 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazepin-4-il]-*N*-etilacetamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, junto con uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas.

15

Línea celular	gIC <sub>50</sub> ,Nm
DMS-53	109
SCLC3	119
NCI-H2029	122
NCI-H526	136
NCI-H1417	139
NCI-H2227	144
NCI-H1436	187
DMS-114	194
NCI-H128	454
NCI-H146	564
NCI-H510	570
DMS-273	604
NCI-H1105	676
NCI-H748	680
NCI-H69	681
DMS-153	682
NCI-H1930	711
SW1271	801
COR-L47	1265
NCI-H187	1324
DMS-79	1461
NCI-H1694	1661
NCI-H1048	1888
COLO-668	1955
NCI-H889	2065
NCI-H209	2349
NCI-H2196	2432
NCI-H2141	2689
SHP-77	2982
NCI-H524	3153
NCI-H2171	3571
NCI-H774	3613
NCI-H446	4050
NCI-H82	16386
NCI-H345	17395
NCI-H2081	19189
NCI-H1092	29326
NCI-H2107	29326

Figura 1a

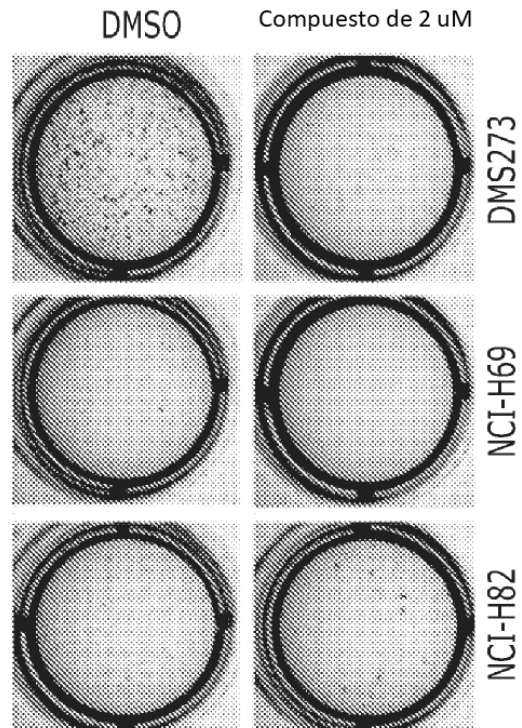


Figura 1b

Línea celular	gIC <sub>50</sub> ,Nm
DMS273	903
NCI-H69	1403
NCI-H82	10535

Figura 1c

Tumor	gIC <sub>50</sub> ,Nm
LXFS 2156	716
LXFS 615	1066
LXFS 1129	1114
LXFS 650	1139
LXFS 573	2274
LXFS 538	2670

Figura 1d



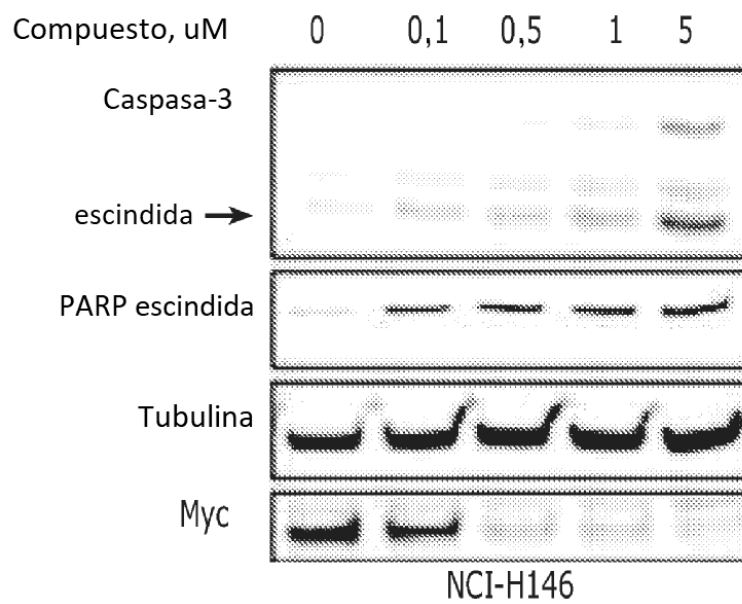
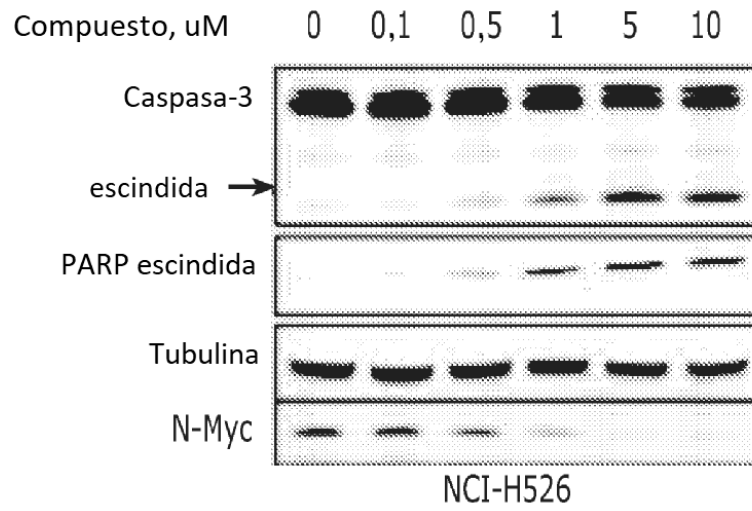
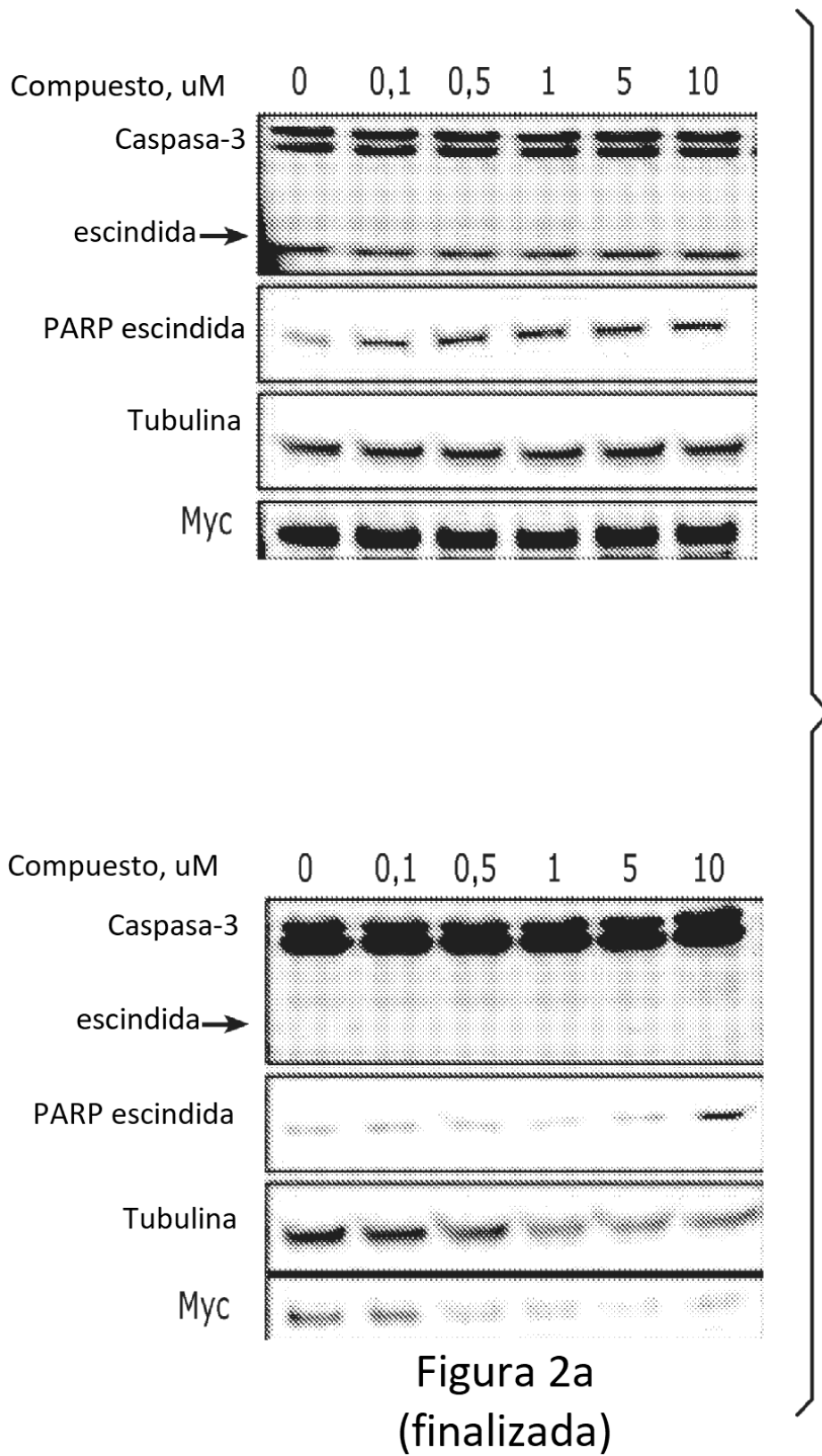


Figura 2a  
(continuación)

Figura 2a (continuación)	Figura 2a (continuación)
-----------------------------	-----------------------------



Actividad de la caspasa 3/7 en un estudio de panel de líneas de CPCP

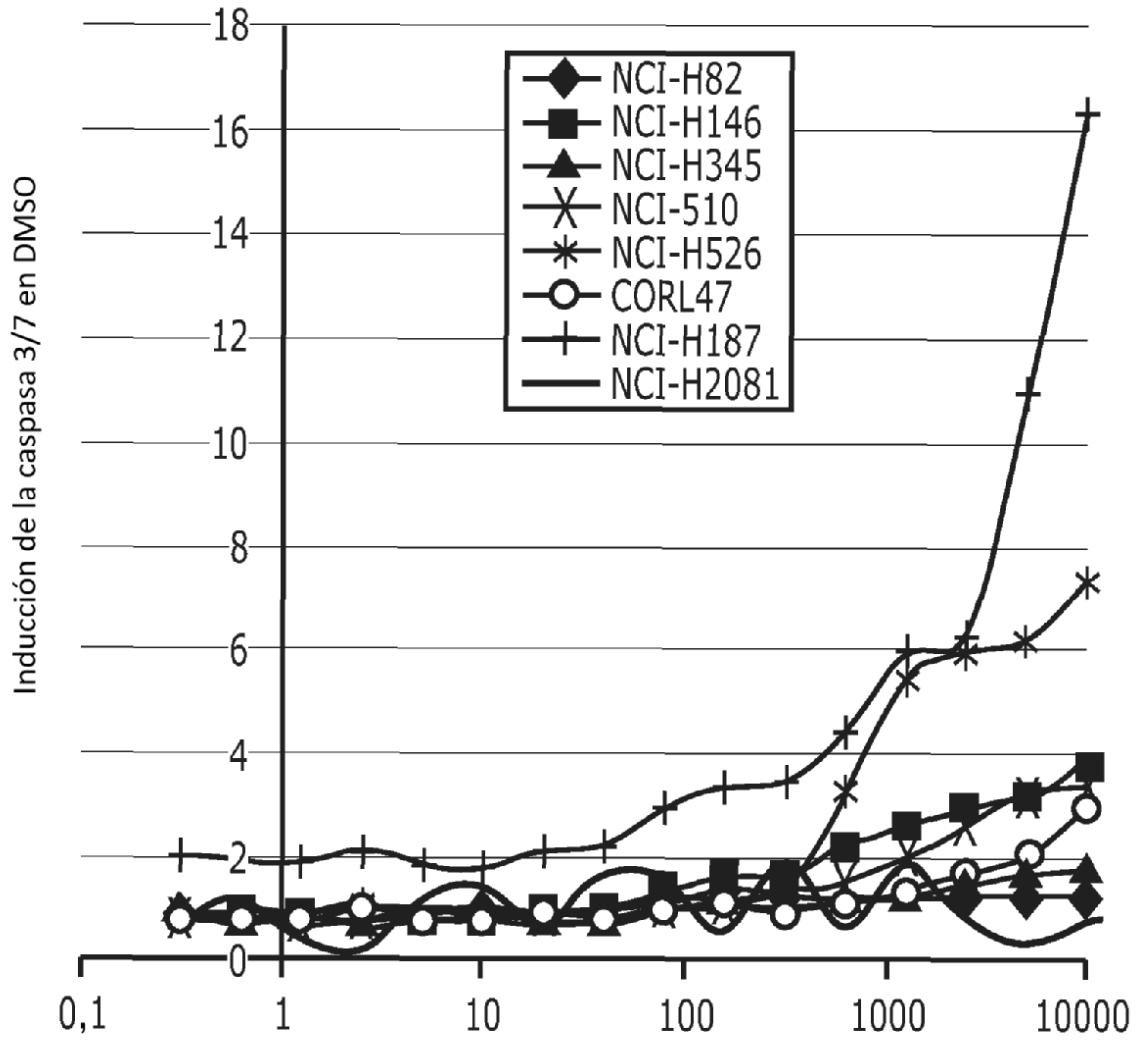


Figura 2b

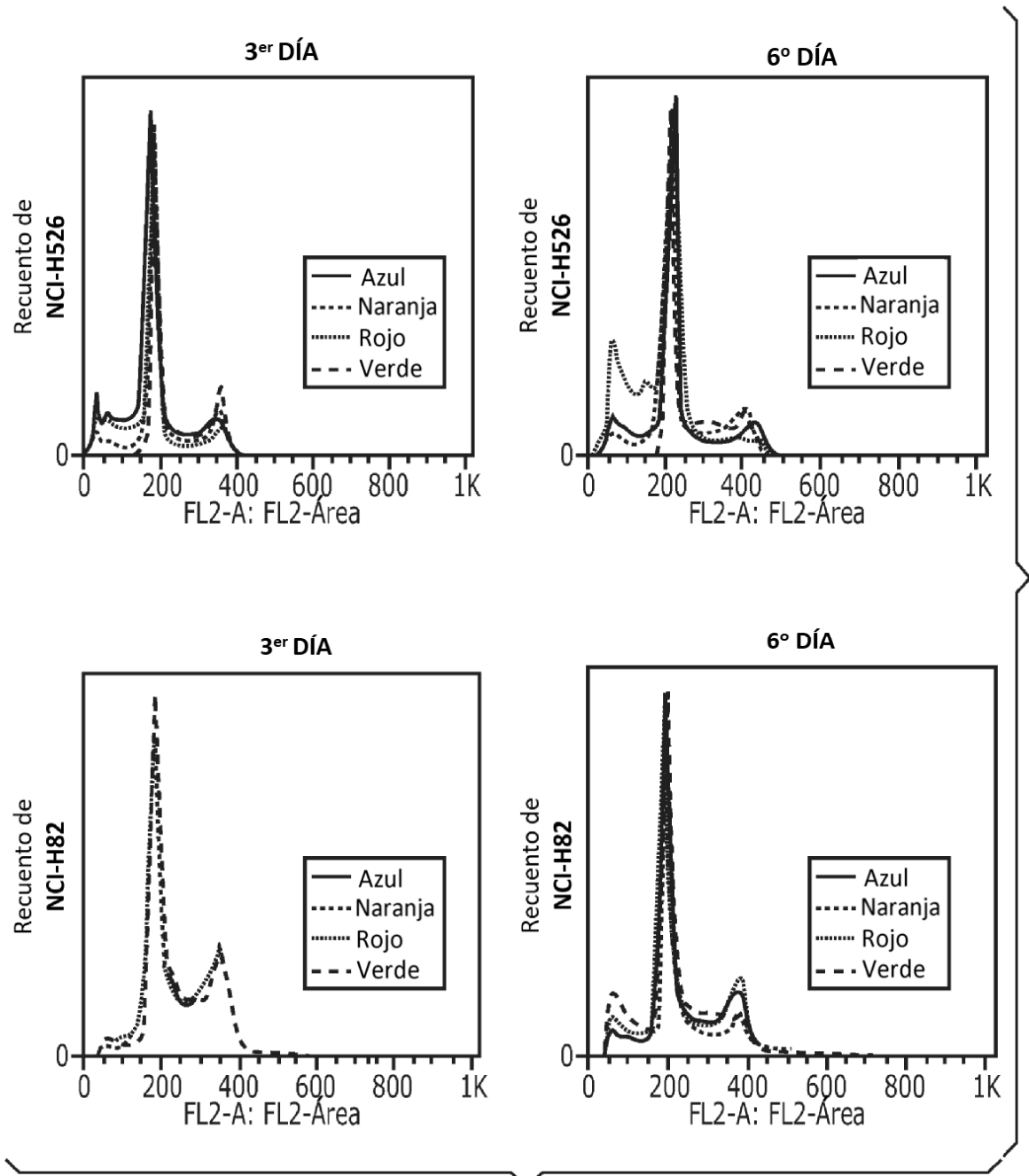


Figura 2c

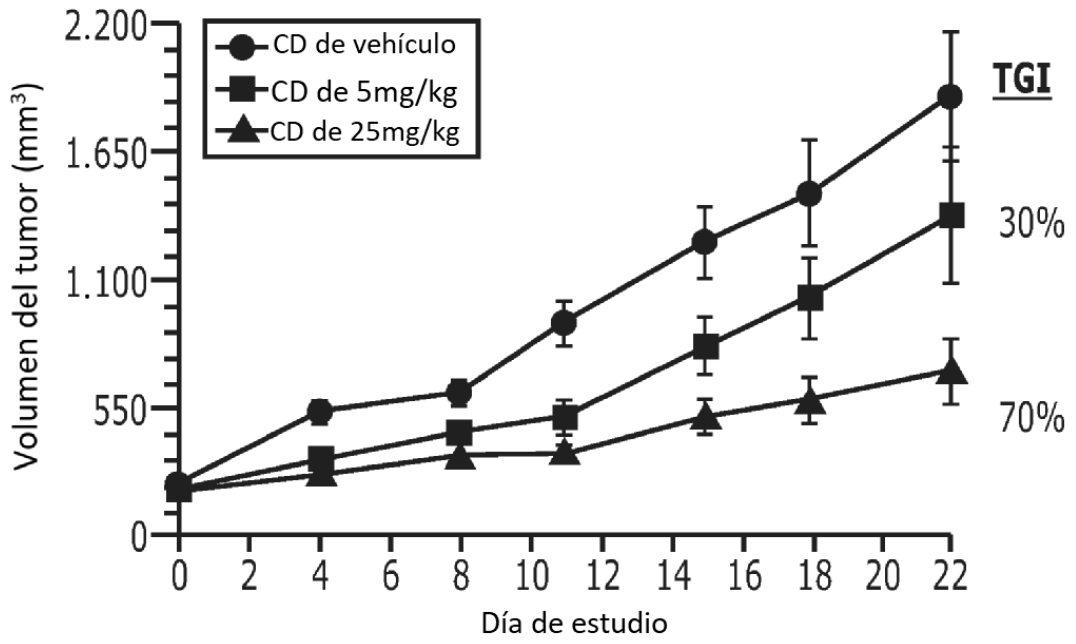


Figura 3a

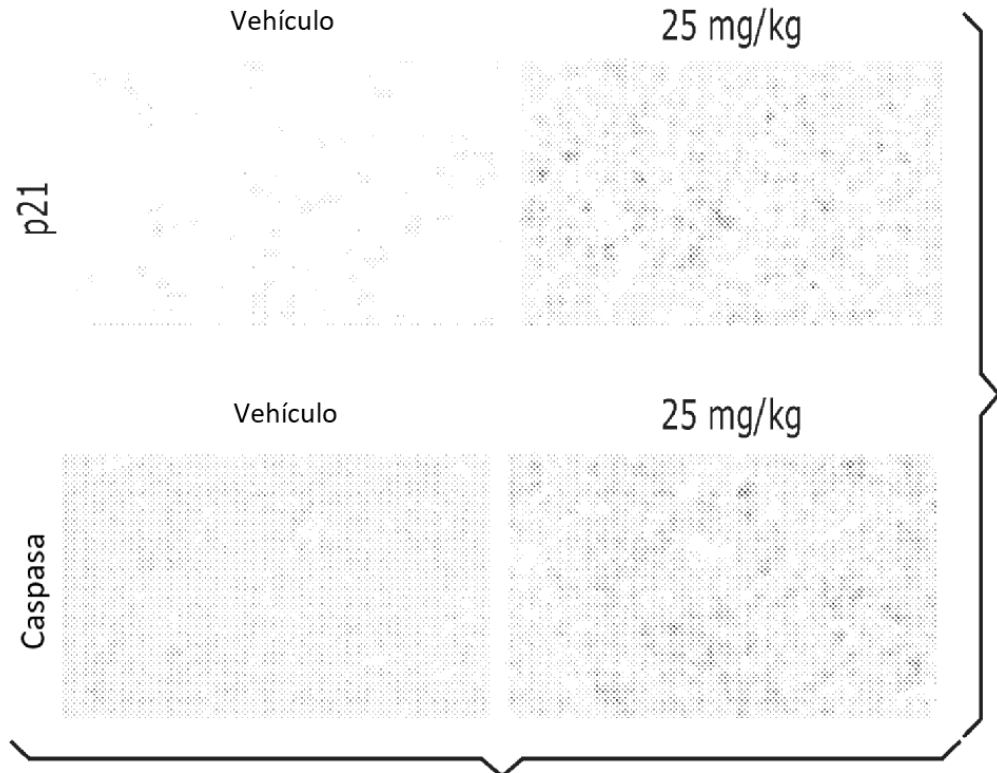


Figura 3b

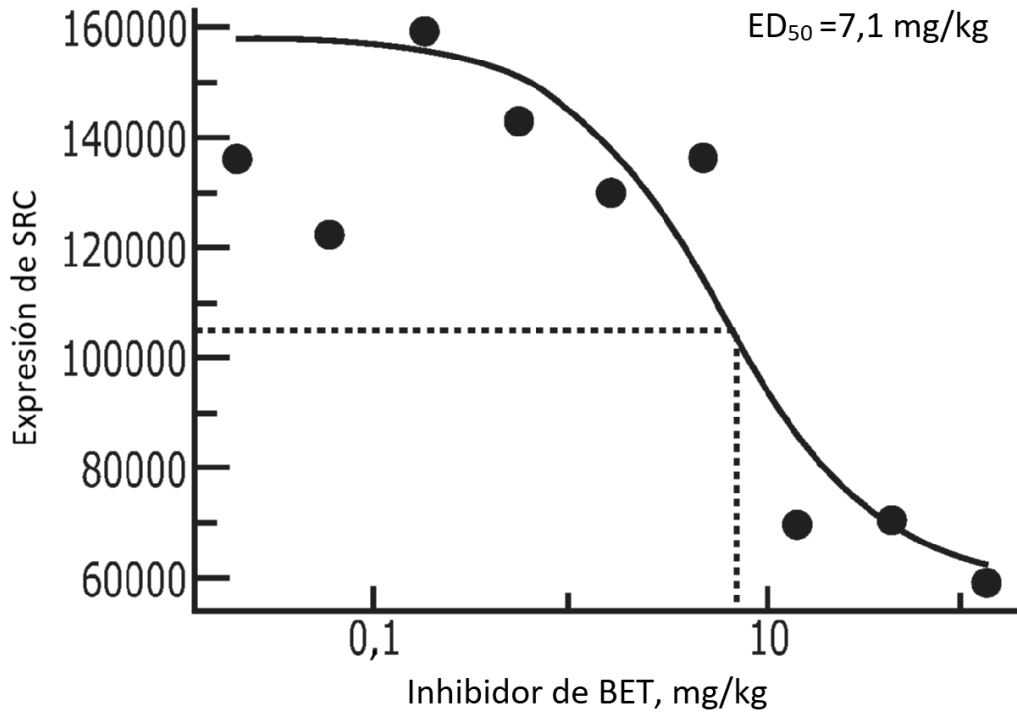


Figura 3c