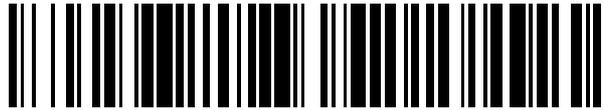


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 739**

51 Int. Cl.:

A61K 31/713 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/4725 (2006.01)

A61K 31/7105 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2013 PCT/CN2013/086053**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.05.2014 WO14063659**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2013 E 13849415 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.11.2017 EP 2911661**

54 Título: **Tratamiento de cáncer de pulmón usando el inhibidor SIS3 de Smad3**

30 Prioridad:

26.10.2012 US 201261719114 P

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

26.03.2018

73 Titular/es:

**THE CHINESE UNIVERSITY OF HONG KONG
(100.0%)
Shatin, N.T.
Hong Kong, CN**

72 Inventor/es:

LAN, HUI YAO

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 660 739 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

Tratamiento de cáncer de pulmón usando el inhibidor SIS3 de Smad3

5 Antecedentes de la invención

10 Cáncer es un término genérico para un gran grupo de enfermedades que pueden afectar cualquier parte del cuerpo. Una característica definitoria del cáncer es la rápida proliferación de células anormales que crecen más allá de sus límites habituales. Las células cancerosas pueden luego invadir partes adyacentes del cuerpo y diseminarse a otros órganos en un proceso conocido como metástasis. La metástasis es la principal causa de muerte por cáncer y también puede ser promovida por las células que rodean el cáncer llamadas células estromales cancerosas o microambientes cancerosos.

15 Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, causando 7,6 millones de muertes (alrededor del 13% de todas las muertes) en 2008. El cáncer de pulmón, estómago, hígado, colon y mama causa la mayoría de las muertes por cáncer cada año. A pesar del intenso esfuerzo de investigación y avance tecnológico en las ciencias biomédicas, se prevé que las muertes por cáncer en todo el mundo sigan aumentando, con un estimado de 13,1 millones de muertes en 2030. El documento US 6.013.788 A se relaciona con la modulación antisentido de la expresión de Smad3. El documento US 2003/139366 A1 se refiere a la inhibición de Smad3 para prevenir la fibrosis y mejorar la cicatrización de heridas. El documento WO 2008/022467 A1 describe doles de aza na sustituida y 2 tienopirroles sustituidos, sus precursores y nuevos procedimientos para la preparación de los mismos. I Calone et al. (Experimental Oncology, 1 de enero de 2012, páginas 9 a 16) se refieren a la inhibición de la se nalizaci n de TGF  y sus implicaciones en tratamientos contra el cáncer. Tsai, Shirling et al. (Am. J. Physiol. Heart circ. Physiol. Vol. 297, 12 de junio de 2009, páginas H540 a H549) describen que TGF  mediante la se nalizaci n de Smad3 estimula la proliferación de células vasculares de músculo liso y la formación neointimal. El documento WO 2004/068143 A1 divulga una composición farmacéutica para alterar las respuestas celulares a TGF  y/o BMP; comprendiendo la composición una molécula que evita, inhibe o reduce la asociación de una proteína Smad con una UCH, en mezcla con un vehículo, excipiente o diluyente fisiológicamente aceptable. Jinnin, Masatoshi et al. (Mol. Pharmacol., Vol. 69, No. 2, 2006, páginas 597 a 607) se refieren a la caracterización de SIS, un nuevo inhibidor específico de Smad3, y su efecto sobre la transformación de la expresión de la matriz extracelular inducida por el factor de crecimiento beta 1. Liu, Xiaobing et al. (Chinese Journal of Pathophysiology, Vol. 27, No. 7, 2011, páginas 1376 a 1381) describen el efecto del silencio de Smad3 mediado por ARNpi sobre la proliferación y la apoptosis en células estrelladas hepáticas activadas.

25 Debido a la prevalencia del cáncer y su impacto significativo en la humanidad, sigue existiendo la necesidad urgente de desarrollar estrategias nuevas y más eficaces para el tratamiento del cáncer. La presente invención aborda esta y otras necesidades relacionadas porque proporciona un nuevo tratamiento anticanceroso usando el inhibidor SIS3 de Smad3, definido a continuación, para inhibir tanto el crecimiento de células cancerosas como la función de soporte del microambiente cancerígeno.

40 Breve resumen de la invención

45 De este modo, en el primer aspecto, la presente invención proporciona el compuesto 6,7-Dimetoxi-2-((2E)-3-(1-metil-2-fenil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-il-prop-2-enoil))-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (SIS3) para uso en el tratamiento de carcinoma de pulmón o melanoma. En algunas realizaciones, el uso puede implicar administración subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal u oral. Por ejemplo, el compuesto se puede administrar en forma de una solución, un polvo, una pasta/crema, un comprimido o una cápsula.

50 Breve descripción de los dibujos

55 Fig. 1. Los ratones que carecen de Smad3 est n protegidos contra el crecimiento de carcinoma de pulmón (LLC) desde el día 14 en adelante. Obsérvase que, a diferencia de los ratones de tipo silvestre con Smad3, no se detectan cánceres en ratones con desactivación de Smad3 mediante imagenología in vivo (A, B), volumen tumoral cuantitativo (C) y peso tumoral (D) durante los días 14-21 después de la implantación subcutánea de células cancerígenas LLC (3 millones de células/ratón), lo que indica microambientes dependientes de Smad3 que determinan el crecimiento del cáncer. N = 6.

60 Fig. 2. Los ratones que carecen de Smad3 est n protegidos del crecimiento, invasión, metástasis y muerte por melanoma (B16F10). Obsérvase que, a diferencia de los ratones de tipo silvestre con Smad3, los ratones con desactivación de Smad3 est n protegidos contra el crecimiento (A-C), invasión (no mostrada), metástasis y muerte (C) de células B16F10 subcutáneas. Esto se confirma adicionalmente mediante inyección intravenosa de células B16F10 (3 millones de células/ratón), lo que demuestra que los ratones con desactivación de Smad3 evitan en gran medida la formación de tumores metastáticos en los pulmones (E y F). Los resultados de este estudio demuestran que los microambientes dependientes de Smad3 promueven el crecimiento, invasión, metástasis y muerte por cáncer. N = 6.

65 Fig. 3. El análisis de imagenología in vivo muestra que el inhibidor de Smad3 (SIS3) inhibe el crecimiento del melanoma (B16F10) en una forma dependiente de la dosis en un modelo de ratón singénico. N = 5

Fig. 4. El inhibidor de Smad3 (SIS3) inhibe el crecimiento del cáncer como se demuestra reduciendo notablemente el peso del cáncer en el melanoma subcutáneo (B16F10, 3 millones de células/ratón) de una manera dependiente de la dosis en un modelo de ratón singénico. N = 5

5 Fig. 5. El inhibidor de Smad3 (SIS3) inhibe el crecimiento del cáncer (A) y previene la invasión y metástasis, y muerte (B) por cáncer inducida por melanoma subcutáneo (B16F10, 3 millones de células/ratón) en una forma dependiente de la dosis en un modelo de ratón singénico. Obsérvese que la invasión por cáncer en los tejidos subcutáneos o los músculos del cuerpo (*) y la metástasis a los ganglios linfáticos (LN), pulmón y colon se mitigan mediante el tratamiento con SIS3. N = 5.

10 Fig. 6. SIS3 previene el crecimiento de carcinoma de pulmón LLC. (A) Análisis de imágenes en vivo, (B) análisis cuantitativo del volumen del tumor. Los resultados muestran que el inhibidor de Smad3 (SIS3) inhibe el crecimiento del carcinoma de pulmón (LLC) en una forma dependiente de la dosis en un modelo de ratón singénico. Tenga en cuenta que la mayoría de los cánceres se vuelven indetectables después de 10 días de tratamiento con SIS3 en dosis de 5-10 µg/g de peso corporal. N = 5

15 Fig. 7. El inhibidor de Smad3 (SIS3) previene el crecimiento del cáncer según lo demuestra el peso tumoral (A) y la muerte (B) inducida por carcinoma de pulmón subcutáneo (LLC, 2 millones de células/ratón) en una forma dependiente de la dosis en un modelo de ratón singénico. N = 5

20 Definiciones

El término "que inhibe" o "inhibición", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier efecto negativo detectable en un proceso biológico objetivo, tal como la transducción de señal celular, la proliferación celular, la tumorigenicidad y el potencial metastásico. Típicamente, una inhibición se refleja en una disminución de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% en el proceso objetivo (por ejemplo, señalización mediada por Smad3 o proliferación de cáncer) o cualquiera de los parámetros posteriores mencionados arriba, cuando se compara con un control.

30 El término "ácido nucleico" o "polinucleótido" se refiere a ácidos desoxirribonucleicos (ADN) o ácidos ribonucleicos (ARN) y sus polímeros en forma monocatenaria o bicatenaria. A menos que se limite específicamente, el término abarca ácidos nucleicos que contienen análogos conocidos de nucleótidos naturales que tienen propiedades de unión similares a las del ácido nucleico de referencia y se metabolizan de manera similar a los nucleótidos naturales. A menos que se indique lo contrario, una secuencia particular de ácido nucleico también abarca implícitamente variantes de la misma modificadas conservativamente (por ejemplo, sustituciones de codones degenerados), alelos, ortólogos, SNP y secuencias complementarias, así como la secuencia explícitamente indicada. Específicamente, las sustituciones de codones degenerados se pueden lograr generando secuencias en las que la tercera posición de uno o más codones seleccionados (o todos) se sustituye con residuos de base mixta y/o de desoxinosina (Batzner et al., Nucleic Acid Res. 19: 5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260: 2605 - 2608 (1985) y Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8: 91 - 98 (1994)). El término ácido nucleico se usa de manera intercambiable con el gen, ADNc y ARNm codificado por un gen.

40 El término "gen" significa el segmento de ADN implicado en la producción de una cadena polipeptídica. Puede incluir regiones que preceden y siguen a la región de codificación (líder y cola) así como secuencias intermedias (intrones) entre segmentos de codificación individuales (exones).

45 El término "aminoácido" se refiere a aminoácidos de origen natural y sintéticos, así como a análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de manera similar a los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos que se producen naturalmente son aquellos codificados por el código genético, así como aquellos aminoácidos que se modifican posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. Los análogos de aminoácidos se refieren a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido natural, es decir, un carbono α que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metionina metil sulfonio. Dichos análogos tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o cadenas peptídicas principales modificadas, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural. "Miméticos de aminoácidos" se refiere a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funciona de manera similar a un aminoácido de origen natural.

55 Existen diversos métodos conocidos en la técnica que permiten la incorporación de un derivado o análogo de aminoácido no natural en una cadena polipeptídica de una manera específica del sitio, véase, por ejemplo, el documento WO 02/086075.

60 Se pueden hacer referencia en la presente memoria a los aminoácidos mediante los símbolos de tres letras comúnmente conocidos o mediante los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica de la IUPAC-IUB. Los nucleótidos, del mismo modo, pueden ser mencionados por sus códigos de una sola letra comúnmente aceptados.

65 "Polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan de forma intercambiable en la presente memoria para referirse a un

5 polímero de residuos de aminoácidos. Los tres términos se aplican a polímeros de aminoácidos en los que uno o más residuos de aminoácidos son un mimético químico artificial de un aminoácido natural correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos naturales y polímeros de aminoácidos no naturales. Como se usa en este documento, los términos abarcan cadenas de aminoácidos de cualquier longitud, incluyendo proteínas de longitud completa, en donde los residuos de aminoácidos están unidos por enlaces peptídicos covalentes.

10 El término "cantidad efectiva", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad que produce efectos terapéuticos para los que se administra una sustancia. Los efectos incluyen la prevención, corrección o inhibición de la progresión de los síntomas de una enfermedad/condición y complicaciones relacionadas en cualquier extensión detectable. La cantidad exacta dependerá de la naturaleza del agente terapéutico, la forma de administración, y el propósito del tratamiento, y puede ser averiguado por un experto en la técnica usando técnicas conocidas (véase, por ejemplo, Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 1992), Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999) y Pickar, Dosage Calculations (1999)).

15 Un "casete de expresión" es una construcción de ácido nucleico, generada de forma recombinante o sintética, con una serie de elementos de ácido nucleico especificados que permiten la transcripción de una secuencia de polinucleótido particular en una célula huésped. Un casete de expresión puede ser parte de un plásmido, genoma viral o fragmento de ácido nucleico. Típicamente, un casete de expresión incluye un polinucleótido a transcribir, unido operativamente a un promotor.

20 Un "anticuerpo" se refiere a un polipéptido sustancialmente codificado por un gen de inmunoglobulina o genes de inmunoglobulina, o fragmentos de los mismos, que se unen específicamente y reconocen un antígeno, por ejemplo, la proteína Smad3. Los genes de inmunoglobulina reconocidos incluyen los genes de región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como la miríada de genes de región variable de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulinas, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente.

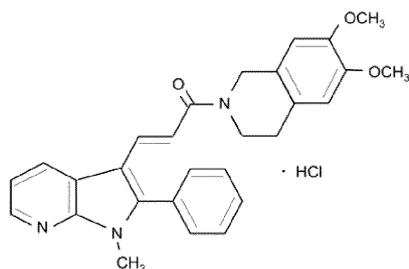
30 Un ejemplo de unidad estructural de inmunoglobulina (anticuerpo) comprende un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto por dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kD) y una cadena "pesada" (aproximadamente 50-70 kD). El extremo terminal N de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento del antígeno. Los términos cadena ligera variable (V_L) y cadena pesada variable (V_H) se refieren a estas cadenas ligeras y pesadas, respectivamente.

35 Los anticuerpos pueden existir en diversas formas, por ejemplo, como inmunoglobulinas intactas o como una serie de fragmentos bien caracterizados producidos por digestión con diversas peptidasas. Así, por ejemplo, la pepsina digiere un anticuerpo por debajo de los enlaces disulfuro en la región bisagra para producir $F(ab)_2'$, un dímero de Fab que en sí mismo es una cadena ligera unida a V_H-C_H1 por un enlace disulfuro. El $F(ab)_2'$ puede reducirse en condiciones suaves para romper el enlace disulfuro en la región bisagra, convirtiendo así el dímero $F(ab)_2'$ en un monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente un Fab con parte de la región bisagra (véase, Paul (Ed.) Fundamental Immunology, Tercera Edición, Raven Press, NY (1993)). Aunque varios fragmentos de anticuerpos se definen en términos de la digestión de un anticuerpo intacto, un experto apreciará que tales fragmentos pueden sintetizarse nuevamente ya sea químicamente o utilizando metodología de ADN recombinante.

45 La modificación adicional de anticuerpos mediante tecnologías recombinantes también es bien conocida en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos quiméricos combinan las regiones de unión a antígeno (regiones variables) de un anticuerpo de un animal con las regiones constantes de un anticuerpo de otro animal. Generalmente, las regiones de unión a antígeno se derivan de un animal no humano, mientras que las regiones constantes se extraen de anticuerpos humanos. La presencia de las regiones constantes humanas reduce la probabilidad de que el anticuerpo sea rechazado como extraño por un receptor humano. Por otro lado, los anticuerpos "humanizados" combinan una porción aún más pequeña del anticuerpo no humano con componentes humanos. Generalmente, un anticuerpo humanizado comprende las regiones hipervariables, o las regiones determinantes de la complementariedad (CDR), de un anticuerpo no humano injertado en las regiones marco apropiadas de un anticuerpo humano. Los sitios de unión a antígeno pueden ser de tipo silvestre o modificados por una o más sustituciones de aminoácidos, por ejemplo, modificados para parecerse más a la inmunoglobulina humana. Tanto los anticuerpos quiméricos como humanizados se preparan usando técnicas recombinantes, que son bien conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Jones et al. (1986) Nature 321: 522 - 525).

60 Por lo tanto, el término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, también incluye fragmentos de anticuerpos producidos por la modificación de anticuerpos completos o anticuerpos sintetizados nuevamente utilizando metodologías de ADN recombinante (por ejemplo, Fv de cadena simple, un anticuerpo quimérico o humanizado).

65 El término "SIS3", como se usa en el presente documento, se refiere a un inhibidor selectivo permeable de una célula de fosforilación de Smad3 dependiente de TGF- β 1 y señalización celular mediada por Smad3. Es un compuesto químico que tiene un peso molecular de 453,5, nombre químico (6,7-Dimetoxi-2-((2E)-3-(1-metil-2-fenil-1H-pirrolol[2,3-b] piridin-3-il-prop-2-enil))-1,2,3,4-tetrahidroisquinolina), y la estructura química que se muestra a continuación:



SIS3 puede sintetizarse a partir de derivados de indol de acuerdo con métodos publicados de ácido 2-(N-metilindolil) acrílico, seguido por condensación con la amina correspondiente. Véase, por ejemplo, Jinnin et al. 2006 Mol. Pharmacol. 69: 597. SIS3 también está disponible comercialmente a través de varios proveedores, tales como Santa Cruz, Sigma y Millipore, solo para fines de investigación biológica básica.

Descripción detallada de la invención

10 I. Introducción

El cáncer sigue siendo una de las principales causas de muertes humanas. El tratamiento del cáncer con fármacos citotóxicos es, con frecuencia, ineficaz y presenta una alta citotoxicidad con efectos secundarios sistémicos graves. La creciente evidencia muestra que el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) actúa como un potente promotor tumoral en el carcinoma establecido. El TGF- β derivado del cáncer impulsa la progresión maligna al inducir constitutivamente la transición epitelial a mesenquimal y la angiogénesis asociada a tumores, y mediante la supresión de la inmunidad antitumoral en el microambiente del cáncer. Con base en esa información, se han desarrollado muchos enfoques terapéuticos dirigidos a los receptores de TGF- β utilizando el receptor II soluble de TGF- β , inhibidores de la quinasa ALK5 de molécula pequeña, así como anticuerpos neutralizantes, por parte de investigadores y compañías farmacéuticas. Algunos de ellos se han mostrado prometedores en los primeros estudios preclínicos, incluidos SD-093, SD-208 y SM16. Sin embargo, TGF- β es una citoquina antiinflamatoria fundamental y el bloqueo general de TGF- β a nivel del receptor de TGF- β también es problemático debido a la probabilidad de causar enfermedades autoinmunes. Por lo tanto, la investigación aplicada de la señalización de TGF- β para identificar objetivos terapéuticos más específicos relacionados con la progresión del cáncer puede ofrecer una mejor terapia contra el cáncer clínicamente.

Un nuevo descubrimiento de un estudio reciente realizado por el grupo del inventor fue que los ratones nulos para Smad3, un mediador clave de la señalización del TGF- β , están protegidos contra el crecimiento del cáncer, invasión, metástasis (por ejemplo, a los tejidos de ganglios linfáticos, hígado, pulmón, gástrico y de colon) y muerte en dos modelos de cáncer altamente invasivos, que incluyen el carcinoma de pulmón (LLC) y melanoma (B16F10). Este hallazgo indica que el microambiente del cáncer dependiente de Smad3 en el huésped determina la progresión o regresión del cáncer. Esto también indica que dirigirse a Smad3 en el microambiente del cáncer (y también al cáncer) puede ofrecer una mejor terapia contra el cáncer. Se realizó un estudio para probar esta nueva estrategia terapéutica mediante direccionamiento a Smad3 con un inhibidor de Smad3 (SIS3) en melanoma establecido (B16F10) en ratones. De forma similar a los resultados observados en ratones con desactivación de Smad3, el tratamiento con SIS3 virtualmente suprimió el crecimiento, la invasión y la metástasis del cáncer y evitó la muerte por cáncer. Por lo tanto, SIS3 es un nuevo medicamento contra el cáncer que se dirige a TGF- β /Smad3, que es altamente relevante desde el punto de vista clínico y puede dar como resultado una terapia anticancerosa nueva, más segura y más efectiva.

40 II. Tecnología recombinante general

Los textos básicos que describen métodos y técnicas generales en el campo de la genética recombinante incluyen Sambrook y Russell, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (3ª edición, 2001); Krieglger, Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual (1990); y Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology (1994).

Para ácidos nucleicos, los tamaños se dan en kilobases (kb) o pares de bases (pb). Estas son estimaciones derivadas de la electroforesis en gel de agarosa o acrilamida, de ácidos nucleicos secuenciados o de secuencias de ADN publicadas. Para las proteínas, los tamaños se dan en kilodaltons (kDa) o número de residuos de aminoácidos. El tamaño de las proteínas se estima a partir de electroforesis en gel, de proteínas secuenciadas, de secuencias derivadas de aminoácidos o de secuencias de proteínas publicadas.

Los oligonucleótidos que no están disponibles comercialmente se pueden sintetizar químicamente, por ejemplo, de acuerdo con el método de triéster de fosforamidita en fase sólida descrito por primera vez por Beaucage & Caruthers, Tetrahedron Lett. 22: 1859 - 1862 (1981), usando un sintetizador automático, como se describe en Van Devanter et. al., Nucleic Acids Res. 12: 6159 - 6168 (1984). La purificación de oligonucleótidos se realiza usando cualquier estrategia reconocida en la técnica, por ejemplo, electroforesis en gel de acrilamida nativa o HPLC de intercambio aniónico como se describe en Pearson & Reanier, J. Chrom. 255: 137 - 149 (1983).

La secuencia de un gen de interés, un polinucleótido que codifica un polipéptido de interés, y oligonucleótidos sintéticos puede verificarse después de la clonación o subclonación usando, por ejemplo, el método de terminación de cadena para secuenciar plantillas bicatenarias de Wallace et al., Gene 16: 21 - 26 (1981).

5 III. Identificación de inhibidores para la señalización mediada por Smad3

El inhibidor de la actividad de Smad3 usado en la presente invención es SIS3.

10 IV. Composiciones farmacéuticas y administración

10

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas o composiciones fisiológicas que comprenden una cantidad eficaz de SIS3 para uso en el tratamiento de carcinoma de pulmón o melanoma. Tales composiciones farmacéuticas o fisiológicas también incluyen uno o más excipientes o vehículos farmacéutica o fisiológicamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas de la invención son adecuadas para uso en una diversidad de sistemas de administración de fármacos. Las formulaciones adecuadas para uso en la presente invención se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadelfia, PA, 17ª ed. (1985). Para una breve revisión de los métodos para la administración de fármacos, véase, Langer, Science 249: 1527-1533 (1990).

15

20

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar por diversas vías, por ejemplo, oral, subcutánea, transdérmica, intramuscular, intravenosa o intraperitoneal. Las vías preferidas para administrar las composiciones farmacéuticas son administración local a un órgano o tejido que padece una afección agravada por señalización mediada por TGF- β /Smad3 (por ejemplo, inyección intratumoral a un tumor) con dosis diarias de aproximadamente 0,01 a 2.500 mg, preferiblemente 2,5 -500 mg, de un inhibidor de Smad3 para un humano adulto de 70 kg por día. La dosis apropiada puede administrarse en una sola dosis diaria o como dosis divididas presentadas a intervalos apropiados, por ejemplo, tal como dos, tres, cuatro o más subdosis por día.

25

30

Para preparar composiciones farmacéuticas que contienen SIS3, se usan vehículos inertes y farmacéuticamente aceptables. El portador farmacéutico puede ser sólido o líquido. Las preparaciones en forma sólida incluyen, por ejemplo, polvos, comprimidos, gránulos dispersables, cápsulas, cápsulas lisas y supositorios. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes aromatizantes, solubilizantes, lubricantes, agentes de suspensión, aglutinantes o agentes de desintegración de comprimidos; también puede ser un material encapsulante.

35

En polvos, el vehículo es generalmente un sólido finamente dividido que está en una mezcla con el componente activo finamente dividido SIS3. En comprimidos, el ingrediente activo (un inhibidor de la señalización de TGF- β /Smad3) se mezcla con el vehículo que tiene las propiedades de unión necesarias en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y tamaño deseados.

40

Para preparar composiciones farmacéuticas en forma de supositorios, se funde primero una cera de bajo punto de fusión tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos y manteca de cacao y el ingrediente activo se dispersa en la misma, por ejemplo, mediante agitación. La mezcla homogénea fundida luego se vierte en moldes de tamaño conveniente y se deja enfriar y solidificar.

45

Los polvos y comprimidos contienen preferiblemente entre aproximadamente 5% y aproximadamente 70% en peso del ingrediente activo de SIS3. Los vehículos adecuados incluyen, por ejemplo, carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, lactosa, azúcar, pectina, dextrina, almidón, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao y similares.

50

Las composiciones farmacéuticas pueden incluir la formulación del compuesto activo de SIS3 con material de encapsulación como un vehículo que proporciona una cápsula en la que el inhibidor (con o sin otros vehículos) está rodeado por el vehículo, de modo que el vehículo está así asociado con el compuesto. De manera similar, las cápsulas lisas también se pueden incluir. Los comprimidos, polvos, cápsulas lisas y cápsulas se pueden usar como formas de dosificación sólidas adecuadas para administración oral.

55

Las composiciones farmacéuticas líquidas incluyen, por ejemplo, soluciones adecuadas para administración oral o parenteral, suspensiones y emulsiones adecuadas para administración oral. Las soluciones acuosas estériles del componente activo (SIS3) o soluciones estériles del componente activo en disolventes que comprenden agua, agua regulada, solución salina, PBS, etanol o propilenglicol son ejemplos de composiciones líquidas adecuadas para administración parenteral. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximar las condiciones fisiológicas, tales como los agentes de ajuste del pH y de regulación, los agentes de ajuste de la tonicidad, los agentes humectantes, los detergentes y similares.

60

65

Las soluciones estériles se pueden preparar disolviendo el componente activo (SIS3) en el sistema disolvente deseado, y luego pasando la solución resultante a través de un filtro de membrana para esterilizarlo o, alternativamente, disolviendo el compuesto estéril en un disolvente previamente esterilizado bajo condiciones estériles. Las soluciones acuosas resultantes pueden envasarse para usarse tal cual, o liofilizarse, combinándose la preparación liofilizada con

un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones típicamente estará entre 3 y 11, más preferiblemente entre 5 y 9, y lo más preferiblemente entre 7 y 8.

5 Las composiciones farmacéuticas que contienen SIS3 pueden administrarse para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se administran a un paciente que ya padece una afección que puede verse exacerbada por la señalización celular mediada por TGF- β /Smad3 en una cantidad suficiente para prevenir, curar, revertir, o al menos ralentizar o detener los síntomas de la condición y sus complicaciones, como el inicio, la progresión y la metástasis de ciertos tipos de cáncer. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como una "dosis terapéuticamente efectiva". Las cantidades efectivas para este uso dependerán de la gravedad de la enfermedad o condición y del peso y estado general del paciente, pero generalmente varían de aproximadamente 0,1 mg hasta aproximadamente 2.500 mg del inhibidor por día para un paciente de 70 kg, con dosis de aproximadamente 2,5 mg hasta aproximadamente 500 mg del inhibidor por día para un paciente de 70 kg que se usa con más frecuencia.

15 En aplicaciones profilácticas, las composiciones farmacéuticas que contienen SIS3 se administran a un paciente susceptible o en peligro de desarrollar una enfermedad o afección en la que no se desea una señalización excesiva mediada por TGF- β /Smad3, en una cantidad suficiente para retrasar o prevenir el inicio de los síntomas. Dicha cantidad se define como una "dosis profilácticamente efectiva". En este uso, las cantidades precisas del inhibidor dependen nuevamente del estado de salud y peso del paciente, pero generalmente varían de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 2.500 mg del inhibidor para un paciente de 70 kg por día, más comúnmente de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 500 mg para un paciente de 70 kg por día.

25 Se pueden llevar a cabo administraciones únicas o múltiples de las composiciones con niveles de dosis y de patrón seleccionados por el médico tratante. En cualquier caso, las formulaciones farmacéuticas deberían proporcionar una cantidad de SIS3 suficiente para inhibir eficazmente la señalización celular mediada por Smad3 en el paciente, ya sea de forma terapéutica o profiláctica.

Ejemplos

30 Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración solamente y no a modo de limitación. Los expertos en la materia reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que podrían cambiarse o modificarse para producir esencialmente los mismos resultados o resultados similares.

Ejemplo 1: tratamiento con SIS3 de carcinoma de pulmón y melanoma

35 El efecto terapéutico de SIS3 se probó en el modelo de ratón invasivo subcutáneo de carcinoma de pulmón y melanoma. Las células de carcinoma de pulmón de ratón altamente invasivas (LLC-luc) y las células de melanoma (B16F10-luc) marcadas con luciferasa se inyectaron subcutáneamente en ratones C57/BL6 genéticamente idénticos con una dosis de 2 millones de células en 200 μ L de PBS por ratón. El crecimiento, invasión y metástasis del cáncer se monitorizaron midiendo el tamaño del tumor, el peso y las imágenes bioluminiscentes semanalmente. Después de que se estableció el cáncer una semana después de la implantación, los ratones portadores de tumores recibieron SIS3 por vía intraperitoneal en dosis de 2,5, 5 y 10 μ g/Kg de peso corporal por día durante 2 semanas. Los animales de control recibieron solución salina diariamente, en lugar de SIS3, y también se monitorizó un grupo de ratones portadores de tumores sin ningún tratamiento (usado como controles no tratados). Se usaron cinco ratones por grupo en este estudio. Los ratones se pesaron y el tamaño del tumor o la metástasis se examinaron mediante imágenes bioluminiscentes en vivo semanalmente. Se registró la tasa de supervivencia. Todos los ratones se sacrificaron 2 semanas después del tratamiento para un examen adicional por histología y volumen y peso tumoral, invasión y metástasis.

50 Este estudio proporciona evidencia que respalda una nueva terapia contra el cáncer mediante direccionamiento a TGF- β /Smad3 con un inhibidor de Smad3 (SIS3). Como se muestra en las Figuras 1 y 2, los ratones nulos para Smad3 estaban protegidos contra el crecimiento, invasión, metástasis y muerte por cáncer en dos modelos de cáncer altamente invasivos que incluyen carcinoma de pulmón (LLC) y melanoma (B16F10). Los resultados de estos estudios demostraron claramente que los microambientes dependientes de Smad3 determinaron y promovieron el crecimiento, la invasión, metástasis y muerte por cáncer, proporcionando una fuerte evidencia para el desarrollo de una nueva terapia contra el cáncer mediante el uso del inhibidor de Smad3. Esto fue desarrollado por esta invención que suprimió el tratamiento con un inhibidor de Smad3 (SIS3), tanto en carcinoma de pulmón (LLC) como melanoma (B16F10), crecimiento de cáncer e invasión en los tejidos que rodean el cáncer y metástasis en tejido de ganglios linfáticos, pulmón, hígado, gástrico y de colon de una manera dependiente de la dosis, y por lo tanto previno la muerte por cáncer (Figuras 3-7). De este modo, la presente invención indica a SIS3 como un nuevo agente anticanceroso eficaz mediante la regulación de la transducción de señal celular mediada por TGF- β /Smad3.

60

REIVINDICACIONES

1. El compuesto 6,7-Dimetoxi-2-((2E)-3-(1-metil-2-fenil-1H-pirrololo[2,3-b]piridin-3-il-prop-2-enoilo))-1,2,3,4-tetrahidro-
isoquinolina (SIS3) para uso en el tratamiento de carcinoma de pulmón o melanoma.
5
2. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, en el que el compuesto se administra en forma de una solución, un
polvo, una pasta, un comprimido o una cápsula.
3. El compuesto para uso de la reivindicación 1, en el que el compuesto se formula para administración subcutánea,
10 intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, tópica u oral.

Figura 1

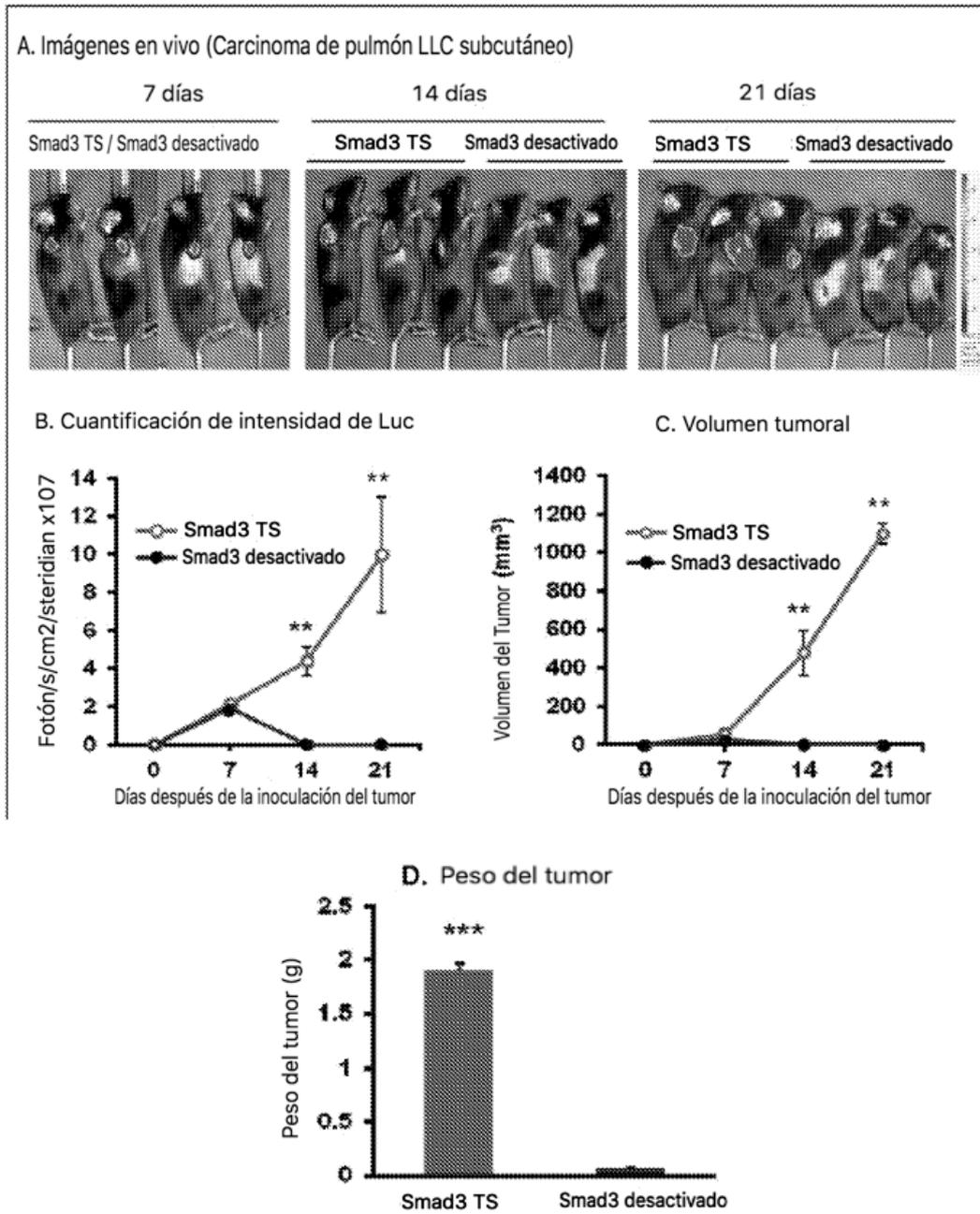


Figura 2

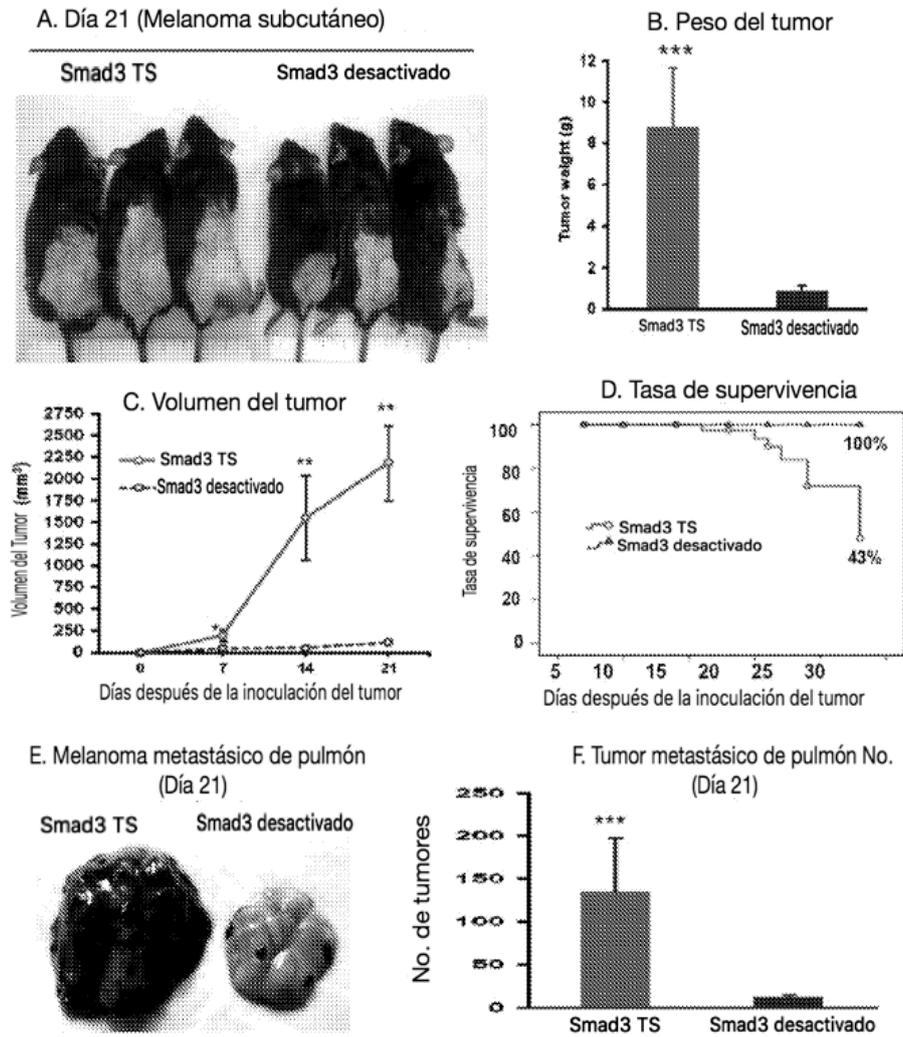


Figura 3

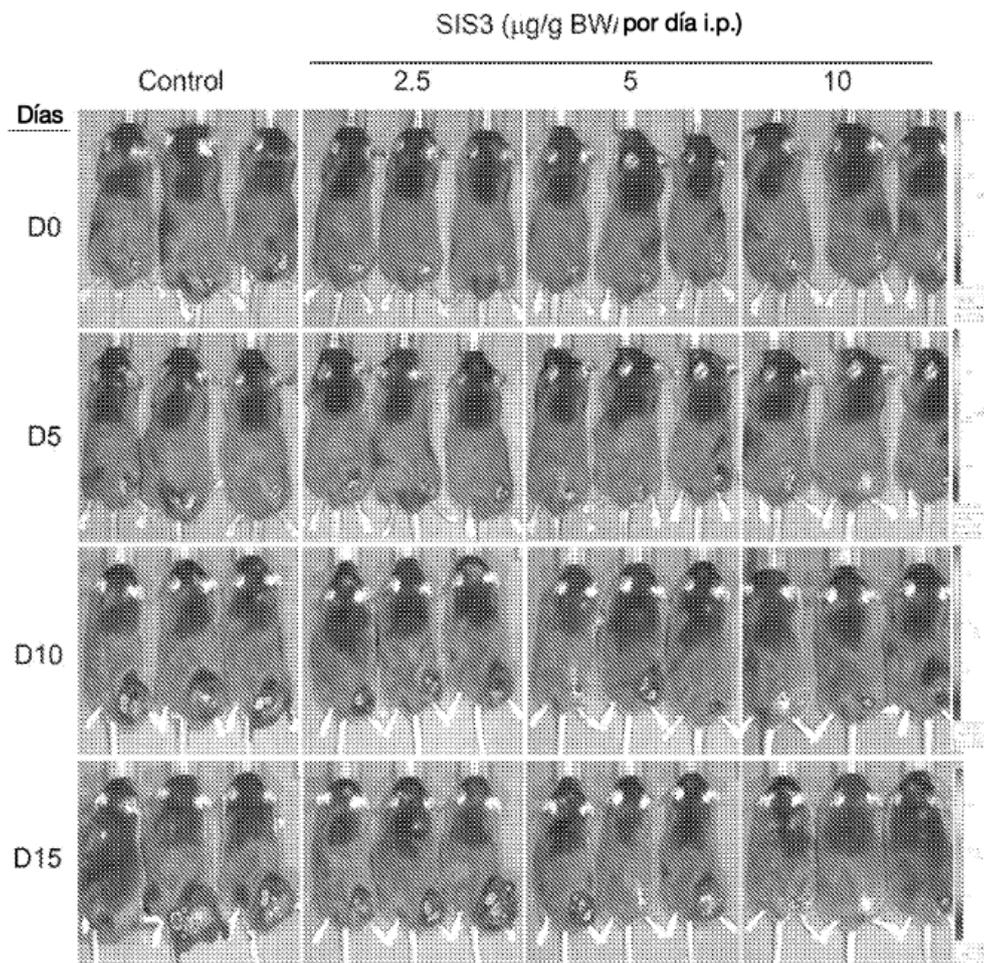


Figura 4

Peso del tumor (melanoma B16F10)

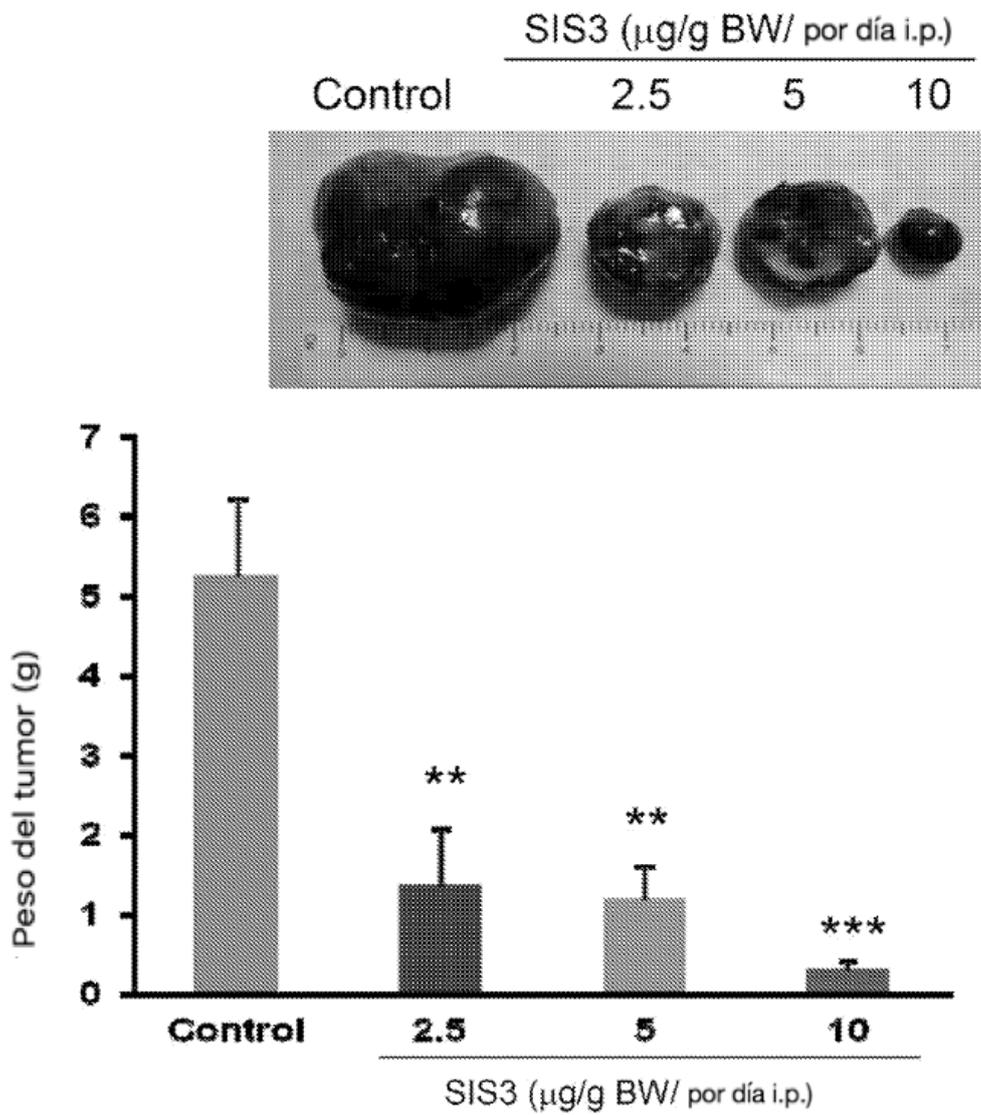


Figura 5

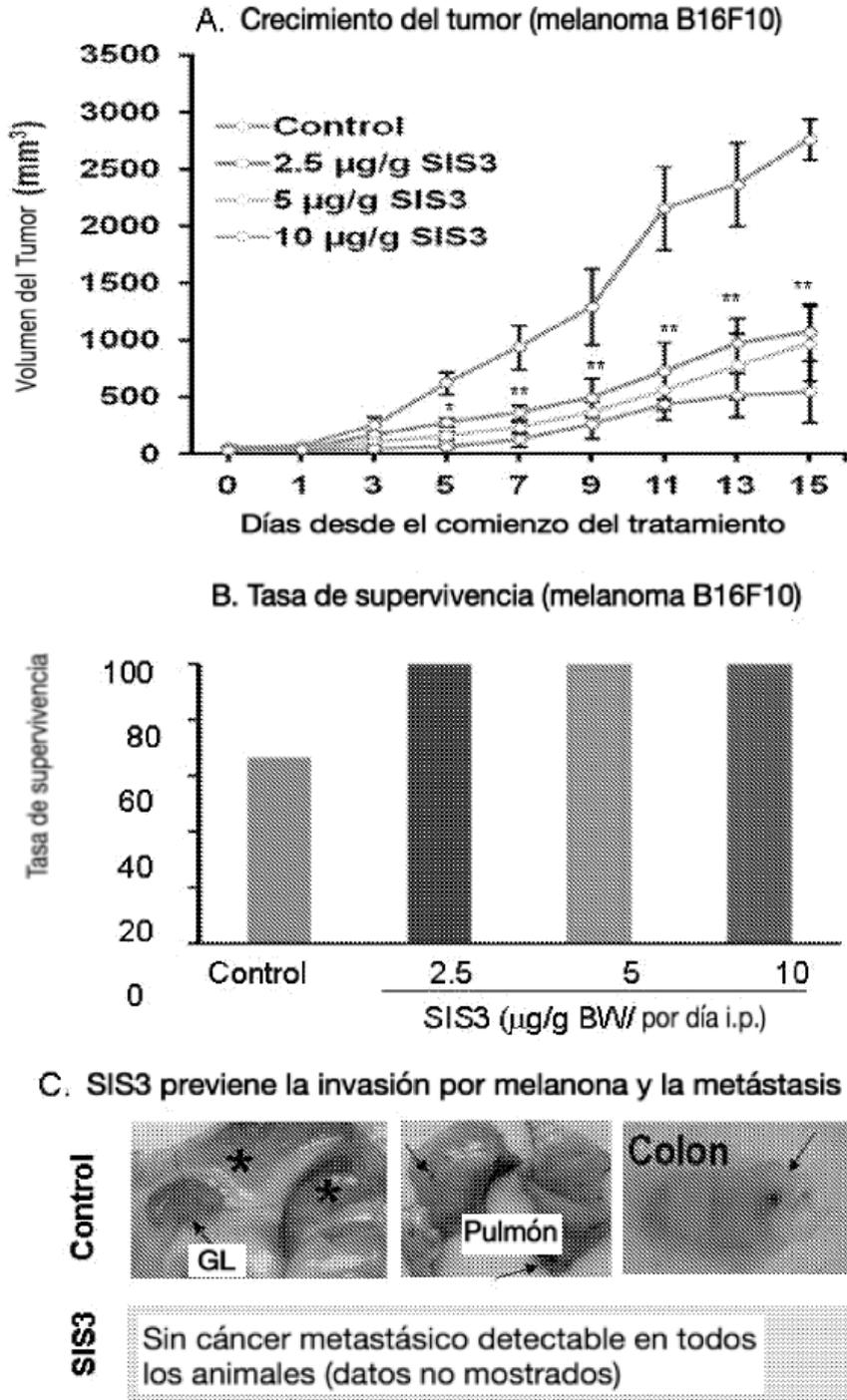
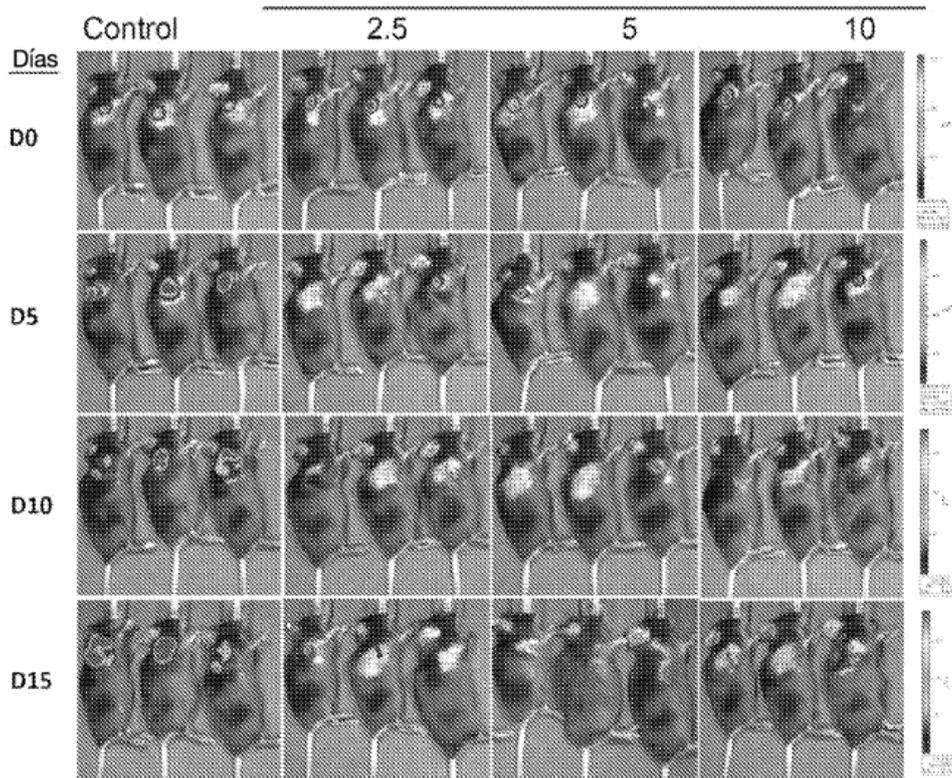


Figura 6

A. Crecimiento del tumor (Carcinoma de pulmón LLC)
 SIS3 ($\mu\text{g/g}$ BW/por día i.p.)



B. Volumen del tumor (Carcinoma de pulmón LLC)

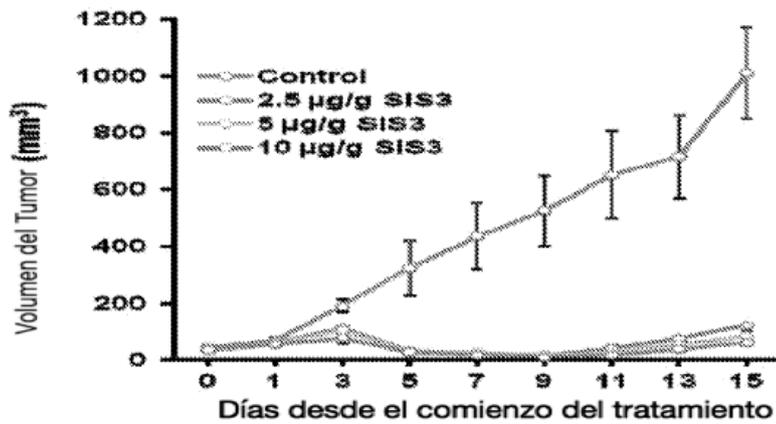
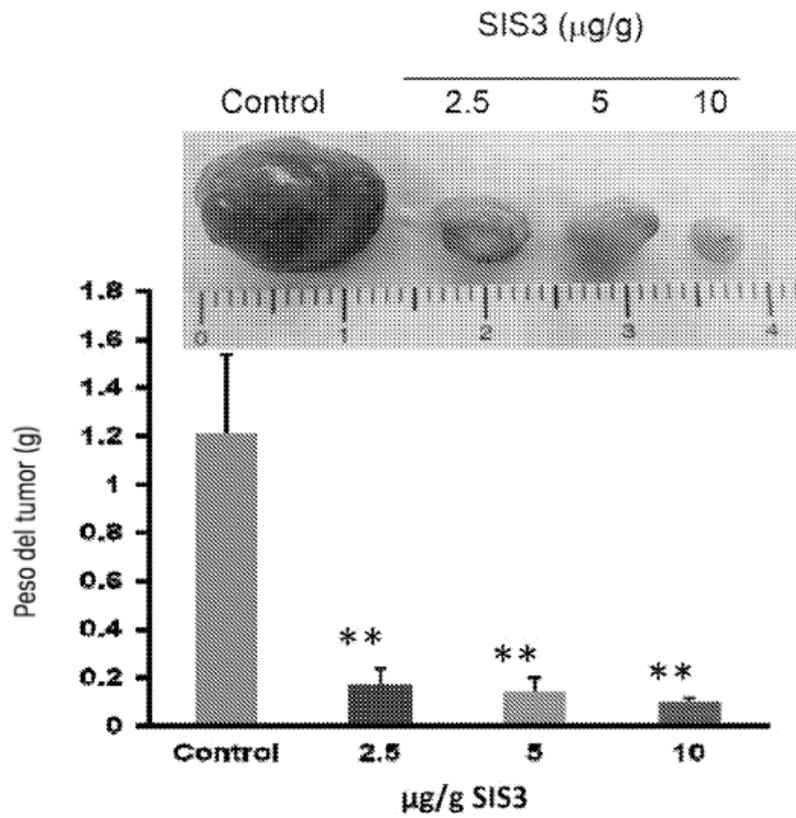


Figura 7

A. Peso del cáncer de pulmón LLC



B. Tasa de supervivencia del cáncer de pulmón LLC

