(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 671 730**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/437 (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/282 (2006.01)
A61K 33/24 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.10.2012 PCT/US2012/062634**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **16.05.2013 WO13070460**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.10.2012 E 12783804 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018 EP 2780011**

(54) Título: **Terapia de combinación para el cáncer de ovario**

(30) Prioridad:

11.11.2011 US 201161558582 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.06.2018

(73) Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

(72) Inventor/es:

CHAN, EDWARD, MICHAEL;
PRATT, SUSAN, ELIZABETH y
STANCATO, LOUIS, FRANK

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 671 730 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

Terapia de combinación para el cáncer de ovario

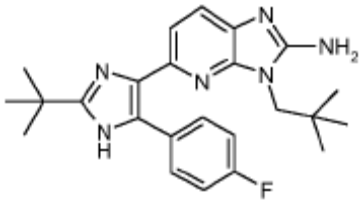
El cáncer de ovario es el segundo cáncer ginecológico más común y el más mortal en términos de números absolutos. Normalmente, el tratamiento incluye quimioterapia y cirugía, y algunas veces radioterapia.

Desafortunadamente, sigue siendo difícil conseguir una cura para el cáncer de ovario y existe la necesidad de terapias adicionales y diferentes que puedan demostrar ser efectivas en el tratamiento del cáncer de ovario.

Se han identificado diversas clases de fármacos contra el cáncer usados para tratar diversos tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de ovario, incluyendo fármacos que contienen platino y análogos de pirimidina. El cisplatino (conocido también como cisplatino o cis-diaminadicloroplatino (II)) fue el primer miembro de una clase de fármacos contra el cáncer que contienen platino, que ahora incluye también carboplatino. Estos complejos de platino reaccionan *in vivo,* uniéndose a y causando la reticulación del ADN, que finalmente desencadena la apoptosis (muerte celular programada).

El clorhidrato de gemcitabina (al que se hace referencia en adelante como gemcitabina) es un análogo de pirimidina. En la actualidad, se usa para tratar varios tipos de cáncer, incluso en combinación con carboplatino, para el tratamiento del cáncer de ovario.

Aunque en la literatura se ha informado de que la gemcitabina más cisplatino es un régimen bien tolerado y activo en pacientes con cáncer de ovario recurrente, los presentes inventores han descubierto que cuando estos agentes se usan en combinación con 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, un compuesto divulgado en el documento US 7.582.652 que en la actualidad está siendo investigando clínicamente como un posible tratamiento para una diversidad de indicaciones de cáncer, la combinación triple proporciona una mejora en la eficacia con respecto a la combinación de gemcitabina más cisplatino.



5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina

Además, debido a que la combinación de carboplatino y gemcitabina se usa también en la actualidad para el tratamiento del cáncer de ovario, y en la literatura se ha informado también que se observa una eficacia comparable en el tratamiento del cáncer de ovario entre carboplatino en comparación con cisplatino (sin embargo, con menos toxicidad observada con carboplatino), los presentes inventores concluyen que la combinación triple de gemcitabina, carboplatino y 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina puede ser más eficaz que una combinación de gemcitabina y carboplatino junto con el beneficio potencial de una menor toxicidad mediante la administración de carboplatino en lugar de cisplatino.

La presente invención se refiere a un procedimiento de tratamiento de cáncer de ovario en un mamífero que comprende administrar una combinación de gemcitabina, un agente de platino seleccionado de entre el grupo que consiste en cisplatino y carboplatino, y 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o una sal farmacéuticamente aceptable. En una realización adicional, la administración es en el mismo día. En otra realización adicional, la administración es durante un ciclo de tratamiento de 21 días. En otra realización adicional, la gemcitabina y el agente de platino se administran hasta 2 días después de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o se administra una sal farmacéuticamente aceptable y se administra gemcitabina nuevamente hasta 7 días después. En otra realización adicional, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de dimetanosulfonato.

La presente invención se refiere también a un procedimiento de tratamiento de cáncer de ovario en un mamífero sometido a terapia concurrente con 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma que comprende administrar una combinación de gemcitabina y un agente de platino seleccionado de entre el grupo que consiste en cisplatino y carboplatino. En una realización adicional, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de dimetanosulfonato.

La presente invención se refiere también a un procedimiento de tratamiento de cáncer de ovario en un mamífero sometido a terapia concurrente con 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un agente de platino seleccionado de entre el grupo que consiste en cisplatino y carboplatino que comprende administrar gemcitabina. En una realización adicional, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de dimetanosulfonato.

La presente invención se refiere también a un procedimiento de tratamiento de cáncer de ovario en un mamífero sometido a terapia concurrente con 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y gemcitabina que comprende administrar un agente de platino seleccionado de entre el grupo que consiste en cisplatino y carboplatino. En una realización adicional, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de dimetanosulfonato.

La presente invención se refiere también a un procedimiento de tratamiento de cáncer de ovario en un mamífero sometido a terapia concurrente con gemcitabina y un agente de platino seleccionado de entre el grupo que consiste en cisplatino y carboplatino que comprende administrar 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización adicional, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de dimetanosulfonato.

La presente invención se refiere también a 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en terapia de combinación con gemcitabina y un agente de platino seleccionado de entre cisplatino y carboplatino en el tratamiento de cáncer de ovario. En una realización adicional, la administración de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o su sal farmacéuticamente aceptable, precede a la administración de gemcitabina y el agente de platino. En otra realización adicional, la administración de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, gemcitabina y el agente de platino es dentro de las 24 horas. En otra realización adicional, la gemcitabina y el agente de platino se administran hasta 2 días después de la administración de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y se administra gemcitabina de nuevo hasta 7 días después. En otra realización adicional, la administración de gemcitabina y el agente de platino precede a la administración de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En otra realización adicional, la gemcitabina y el agente de platino se administran simultáneamente. En otra realización adicional, el agente de platino es cisplatino. En otra realización adicional, el agente de platino es carboplatino. En otra realización adicional, la administración es durante un ciclo de tratamiento de 21 días. En otra realización adicional, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de dimetanosulfonato.

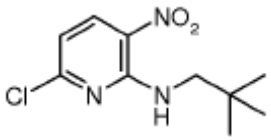
La presente invención se refiere también al uso de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o una sal farmacéuticamente aceptable en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de ovario, en el que dicho medicamento debe administrarse en combinación con un agente de platino y gemcitabina. En una realización adicional, la administración de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o la sal farmacéuticamente aceptable precede a la administración de gemcitabina y el agente de platino. En otra realización adicional, la administración de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o una sal farmacéuticamente aceptable, la gemcitabina y el agente de platino es dentro de las 24 horas. En otra realización adicional, la gemcitabina y el agente de platino se administran hasta 2 días después de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o se administra una sal farmacéuticamente aceptable y se administra gemcitabina de nuevo hasta 7 días después. En otra realización adicional, la administración de gemcitabina y el agente de platino precede a la administración de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En otra realización adicional, la gemcitabina y el agente de platino se administran simultáneamente. En otra realización adicional, el agente de platino es cisplatino. En otra realización adicional, el agente de platino es carboplatino. En otra realización adicional de la misma, la administración es durante un ciclo de tratamiento de 21 días. En otra realización adicional, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de dimetanosulfonato.

La 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina puede prepararse según los procedimientos descritos en el documento US 7.582.652. De manera alternativa, la molécula puede prepararse siguiendo los procedimientos proporcionados en la presente memoria. Los reactivos y los materiales de partida están fácilmente disponibles para un experto habitual en la técnica o pueden prepararse mediante procedimientos que se seleccionan de entre técnicas estándar de química orgánica y heterocíclica, o técnicas que son análogas a la síntesis de compuestos conocidos estructuralmente similares. La denominación de

las Preparaciones y el Ejemplo de referencia 1 siguientes se realiza en general usando la función de denominación IUPAC en Symyx Isentris® versión 3.2.

Preparación 1

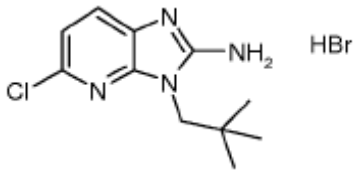
6-cloro-N-(2,2-dimetilpropil)-3-nitro-piridin-2-amina



Se disolvió 2,6-dicloro-3-nitropiridina (30 g, 152,34 mmol) en metilo tert-butil éter (300 ml) para obtener una solución de color amarillo que a continuación se enfrió a 0-5°C. A esta solución, se añadió trietilamina (20 ml, 143,49 mmol), seguido de una adición lenta de neopentilamina (16 ml, 136,40 mmol). Una vez completada la adición, la mezcla de reacción se agitó a 5°C durante 2 horas y a continuación a temperatura ambiente durante la noche. Al día siguiente (después de aproximadamente 18 horas), se observó mediante cromatografía de capa fina (20% de acetato de etilo en hexano) que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se lavó con agua (100 ml) y salmuera (100 ml). La parte orgánica se secó sobre $MgSO_4$, ser filtró y a continuación se concentró a un residuo. Se añadió alcohol isopropílico (20 ml). Aparecieron cristales y se recogieron mediante filtración con lavado usando alcohol isopropílico frío (15 ml) para obtener el compuesto del título (32 g, 86%).

Preparación 2

Bromhidrato de 5-cloro-3-(2,2-dimetilpropil)imidazo[4,5-b]piridin-2-amina



Se cargó (6-cloro-N-(2,2-dimetilpropil)-3-nitro-piridin-2-amina (24,4 g, 0,10 mol) en un autoclave de 1 l con tolueno (300 ml).

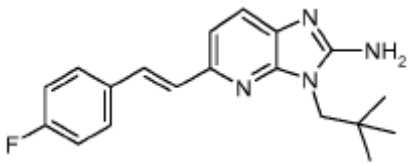
En un vaso de precipitados, se mezcló Pt/C al 5% (1,5 g) con agua (12 ml) y ácido hipofosforoso al 50% (0,25 ml) con agitación durante 10 minutos. La preparación de catalizador de Pt/C se cargó en el autoclave. La mezcla de reacción se calentó a 75°C a 340 kPa de hidrógeno. Después de 3 horas, un análisis de GC indicó que el material de partida estaba presente en menos del 1%. La reacción se detuvo y se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de CELITE® y la torta del filtro se aclaró con metanol. El filtrado que contenía el producto, 6-cloro-N2-(2,2-dimetilpropil)piridin-2,3-diamina, se concentró a vacío hasta un volumen de aproximadamente 100 ml y se usó directamente en la ciclación sin purificación adicional.

La solución anterior se diluyó con metanol (150 ml) y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió bromuro de cianógeno (11 g, 0,105 mol) en una porción. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente con agitación a medida que el baño de hielo se calentaba. La reacción se completó después de aproximadamente 5 a 10 horas.

La mezcla de reacción se concentró bajo vacío hasta aproximadamente 4 volúmenes (para recoger aproximadamente 6 volúmenes de destilado) bajo vacío. Se añadió metil tert-butil éter (6 volúmenes, 180 ml). La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se agitó durante 1 hora. El material se filtró para proporcionar el compuesto del título (22,0 g, 76%) como un sólido blanquecino.

Preparación 3

3-(2,2-dimetilpropil)-5-[(E)-2-(4-fluorofenil)vinil]imidazo[4,5-b]piridin-2-amina

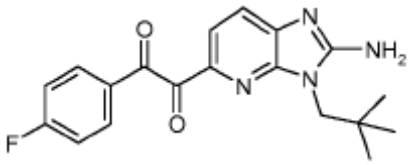


Se cargó bis(di-tert-butil(4-dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (Nº CAS: 887919-35-9) (100,4 mg, 141,8 µmol) en un matraz con forma de pera y el sólido se desoxigenó con 5 ciclos de vacío/nitrógeno. Se añadió 1-butanol (55 ml) y a continuación los contenidos del matraz se desoxigenaron con 3 ciclos de vacío (30 segundos cada uno)/nitrógeno seguido de 2 ciclos adicionales de vacío (60 segundos cada uno)/nitrógeno con agitación. No se consiguió una solución completa, sino una mezcla turbia o nebulosa.

A un matraz de fondo redondo y 3 bocas, equipado con un adaptador Claisen, agitador mecánico, termopar, condensador de reflujo y tabique de caucho, se añadió bromhidrato de 5-cloro-3-(2,2-dimetilpropil)imidazo[4,5-b]piridin-2-amina (22,65 g, 70,9 mmol), y a continuación el espacio superior se desoxigenó con un ligero barrido de nitrógeno durante 15 minutos. Al sólido blanco esponjoso se añadieron 1-butanol (46 ml), diisopropiletilamina (34,48 g, 46,5 ml, 266,8 mmol) y 4-fluoroestireno (11,66 g; 11,4 ml, 95,5 mmol), cada uno mediante una jeringa. Después de desoxigenar esta mezcla burbujeando con nitrógeno durante 40 minutos, se añadió la mezcla de catalizador/butanol mediante una jeringa. La suspensión se burbujeó durante 10 minutos con nitrógeno, y a continuación el espacio superior se barrió durante 5 minutos con nitrógeno. La reacción se dejó bajo agitación a 118-120°C durante la noche. Después de 18 horas, la mezcla se enfrió con agitación. La precipitación o cristalización ocurrió entre 45°C y 70°C. Comenzando a una temperatura de 41°C, se añadió agua desionizada (100 ml) gota a gota durante 10 minutos para producir una suspensión espesa. Después de agitar y enfriar a 26°C, se aplicó un baño de hielo para enfriar el contenido del matraz. Después de 1 hora, se añadieron etanol y más hielo al baño y la temperatura se redujo a -2°C. La mezcla se mantuvo a -2 a -5°C durante 1 hora, a continuación, se filtró a través de una almohadilla de polipropileno (buena filtración), se aclaró con agua desionizada (4 volúmenes), seguido de heptano (3 volúmenes). El material se secó al aire con vacío durante 10 minutos y a continuación se secó en un horno de vacío a 40°C para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanquecino (20,25 g, 88%). ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ 7,51 (m, 2H); 7,41 (d, 1H); 7,32 (d, 1H); 7,19 (m, 3H); 7,08 (d, 1H); 6,79 (s, 2H); 3,89 (s, 2H); 1,00 (s, 9H).

Preparación 4

1-[2-amino-3-(2,2-dimetilpropil)imidazo[4,5-b]piridin-5-il]-2-(4-fluorofenil)etano-1,2-diona



La 3-(2,2-dimetilpropil)-5-[(E)-2-(4-fluorofenil)vinil]imidazo[4,5-b]piridin-2-amina (100,0 g, 308,26 mmol) se mezcló con sulfóxido de dimetilo (200 ml) en un matraz de 2 litros, de fondo redondo, de 3 bocas, equipado con un condensador de reflujo, un termopar y un agitador mecánico. Después de agitar durante 10 minutos, se añadió bromuro de hidrógeno al 48% (28,69 g, 170,20 mmol) durante 4 minutos a la suspensión de color gris. Se observó una exotermia de 22°C a 33°C. A la mezcla de reacción se añadió ácido acético (9,28 g, 154,53 mmol). Después de agitar durante 1,8 horas, se añadió bromuro de hidrógeno al 48% adicional (31,75 g, 188,35 mmol). La mezcla de reacción se calentó y se tornó espesa. Se añadió ácido acético (400 ml, 6.98 mol). Después de alcanzar 91°C, se añadieron sulfóxido de dimetilo (50 ml) y H_2SO_4 al 40% (100 ml). La temperatura se aumentó a 100°C. Después de 3 horas, se añadió H_2SO_4 al 40% adicional (300 ml) y se instaló una trampa Dean-Stark para eliminar los disolventes de bajo punto de ebullición, como el sulfuro de dimetilo. Después de agitar durante otras 17 horas a 100°C, se cargó otra parte de H_2SO_4 al 40% (80 ml) a la reacción. La reacción se agitó durante 1 hora y a continuación se añadió agua desionizada (300 ml). La reacción se agitó durante 3 horas y a continuación la temperatura se aumenta a 103°C seguido de la adición de más agua desionizada (200 ml). Después de 2,5 horas más de agitación, se añadió otra porción de agua desionizada (200 ml). Se continúa agitando y calentando otras 1,5 horas, momento en el que se interrumpió el calentamiento (en total, 28 horas desde el momento de la primera adición de H_2SO_4 al 40%). La mezcla de reacción se deja cristalizar, mientras se enfría a temperatura ambiente durante la noche. El producto se filtra, se aclara con agua desionizada (2 x 200 ml) y a continuación se seca en un horno de vacío a 50°C.

El material sólido (como la sal) se trata con hidróxido sódico 1 M (550 ml) con agitación durante 18 horas. La suspensión se filtra, se aclara con agua desionizada (500 ml) y se seca en un horno de vacío a 50ºC para proporcionar el compuesto del título (83,7 g, 77%). ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ 7,95 (d, 1H); 7,87 (m, 2H); 7,60 (d, 1H); 7,58 (s, 2H); 7,39 (t, 2H); 3,60 (s, 2H); 0,61 (s, 9H).

Preparación 4A (Procedimiento alternativo)

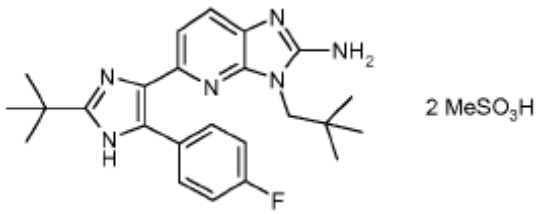
1-[2-amino-3-(2,2-dimetilpropil)imidazo[4,5-b]piridin-5-il]-2-(4-fluorofenil)etan-1,2-diona

Se suspendió 3-(2,2-dimetilpropil)-5-[(E)-2-(4-fluorofenil)vinil]imidazo[4,5-b]piridin-2-amina (1,00 g, 2,93 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml) y ácido sulfúrico al 50% (1 ml) en un matraz de fondo redondo, de 3 bocas, equipado con un termopar y un condensador de reflujo. La mezcla se tornó en una solución transparente y se calentó a reflujo (temperatura interna de 90-93℃ y temperatura del baño de aceite de 115℃). Se añadieron bromuro de hidrógeno (400 µl, 3,56 mmol) y sulfóxido de dimetilo (2,50 ml, 35,20 mmol) respectivamente. La mezcla de reacción se calentó a reflujo usando un baño de aceite y se introdujo nitrógeno a una velocidad de aproximadamente una burbuja/segundo. Después de 1 hora, se añadió una segunda porción de ácido sulfúrico al 50% (3 ml, 21,4 mmol). Después de 5 horas, se añadió una tercera porción de ácido sulfúrico al 50% (4 ml, 31 mmol) y la reacción se continuó bajo reflujo durante la noche. Un análisis HPLC mostró que el producto era > 93%. El baño de aceite se retiró y la reacción se dejó enfriar a aproximadamente 70ºC, momento en el que se añadió agua (5 ml). Después de enfriar a temperatura ambiente (aproximadamente 30 minutos) la mezcla se filtró y la torta se lavó con agua (10 ml) para obtener la sal de sulfato de hidrógeno del producto (1,33 g).

La sal anterior se añadió a hidróxido de sodio 1 N (50 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos para obtener una suspensión de color amarillo claro. La mezcla se filtró y el sólido de color amarillo claro se lavó con agua (3 x 10 ml) y a continuación se secó a 55ºC bajo vacío para proporcionar el compuesto del título (0,91 g, 88%).

Ejemplo de referencia 1

Dimetanosulfonato de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluorofenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetilpropil)imidazo[4,5-b]piridin-2-amina o dimetansulfonato de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina



Se mezcló 1-[2-amino-3-(2,2-dimetilpropil)imidazo[4,5-b]piridin-5-il]-2-(4-fluorofenil)etano-1,2-diona (354 g, 1 mol) con etanol (2,8 l), acetato de amonio (550,0 g, 7,1 mol) y acetaldehído de trimetilo (110 g, 1,3 mol). La reacción se calentó a aproximadamente 70℃ (la temperatura de reacción se mantuvo por debajo del reflujo para ayudar a suprimir la sublimación de NH_4OAc) hasta la desaparición de la diona según se monitorizó mediante HPLC o LC-MS. Después de la finalización de la reacción (normalmente durante la noche), la mezcla se concentró bajo vacío. Se añadieron acetato de etilo (5,3 l) y agua (3,5 l), seguido de NaOH 1 N (1,4 l). La mezcla se agitó durante 20-30 minutos a temperatura ambiente. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2,8 l). Las porciones combinadas de acetato de etilo se lavaron dos veces con 10 volúmenes de salmuera. La solución de acetato de etilo se evaporó a aproximadamente 1,2 l (aproximadamente 3 volúmenes). Se añadió etanol (2,8 l) y la mezcla se calentó a aproximadamente 65℃. Se añadió ácido metanosulfónico (240,0 g, 2,5 mol) en acetato de etilo (600 ml) gota a gota, de manera rápida. La mezcla se mantuvo a aproximadamente 65℃ durante 3 horas. La fuente de calor se retiró y la reacción se enfrió a temperatura ambiente con agitación durante 2 horas más. El producto sólido se recogió mediante filtración, se aclaró con acetato de etilo (500 ml) y se secó en un horno de vacío a aproximadamente 45ºC para obtener el compuesto del título (490 g, 80%). ES/MS m/z 421,5 (M+1). ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ 8,99 (s, 2H), 7,90 (d, 1H, J = 9,0 Hz); 7,86 (d, 1H, J = 9,0 Hz); 7,60 (dd, 2H, J = 9,0 Hz), 7,34 (dd, 2H, J = 9,0 Hz); 3,68 (s, 2H); 2,35 (s, 6H); 1,51 (s, 9H); 0,71 (s, 9H).

Los Ejemplos siguientes ilustran una eficacia mejorada de la administración de combinación triple de los compuestos, 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina (sal de dimetanosulfonato (Compuesto A)), gemcitabina y un agente de platino sobre la combinación doble de gemcitabina y un agente de platino en estudios de xenoinjerto de ratón de cáncer de ovario humano. Debería

entenderse que los Ejemplos se exponen a modo de ilustración y no de limitación, y que un experto en la materia puede realizar diversas modificaciones.

Ejemplo 1

Combinación triple in vivo con Compuesto A, gemcitabina y cisplatino

El propósito de este estudio era comparar el tratamiento de combinación doble de gemcitabina y cisplatino y el tratamiento de combinación triple (incluido el Compuesto A) en un modelo de ratón de xenoinjerto de cáncer de ovario humano para determinar cuál es más eficaz.

Se generaron xenoinjertos de ratón con tumor humano a partir de etapas tempranas de las siguientes líneas celulares de cáncer de ovario: A-2780 (National Cancer Institute), SK-OV-3x.luc (línea celular SK-OV-3 modificada para expresar luciferasa (nº 1, que expresa medio), Indiana University). Las células de cáncer de ovario A-2780 se cultivaron en RPMI 1640 con L-glutamina, HEPES 25 mM (Invitrogen 22400-089) suplementado con piruvato 1 mM y 10% de suero fetal bobino certificado (Gibco 16000, FBS). Las células SK-OV-3x.luc (células de cáncer de ovario) se cultivaron en medio 5A de McCoy con L-glutamina (Invitrogen 16600-082) complementado con aminoácidos no esenciales, piruvato 1 mM y 10% de FBS.

Ratones atímicos desnudos Harlan (6-7 semanas de edad) se alojaron con alimentación ilimitada (“ad libitum”) y agua, y se aclimataron durante una semana antes de la implantación del xenoinjerto subcutáneo en el flanco trasero derecho con un número definido de células. Los implantes A-2780 o SK-OV-3x.luc consisten en 0,1 ml de células (2 o 5 x 10^6 células, respectivamente) en medio sin suero con 0,1 ml de MATRIGEL® (BD Biosciences) para un volumen final de 0,2 ml. Los tumores de dejaron desarrollar hasta un volumen de 120-150 mm^3 y a continuación se asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento para conseguir un tamaño de tumor promedio constante en todos los grupos. Cada grupo de tratamiento del estudio SK-OV-3x.luc es de 12 animales; cada grupo del estudio A-2780 es de 20 animales.

El compuesto A se preparó semanalmente en hidroxietilcelulosa (HEC) al 1%/TWEEN® 80 al 0,25%/antiespumante al 0,05% (HEC/TWEEN®) y se almacenó a 4ºC. Una dosis de 30 mg/kg del Compuesto A para el grupo de tratamiento SK-OV-3x.luc (o 10 mg/kg para el grupo de tratamiento A-2780), o su vehículo, se administró por vía oral mediante sonda gástrica tres veces al día (TID) en un volumen de 0,2 ml durante 3 semanas. El protocolo de tratamiento incluye un tratamiento inicial de dos días con el Compuesto A antes de la introducción de los tratamientos con gemcitabina y cisplatino.

El cisplatino y la gemcitabina se diluyeron en PBS, se prepararon y se administraron semanalmente como inyecciones intraperitoneales de 0,2 ml. El volumen se administró como una constante, como se ilustra en la Tabla 1.

Tabla 1

Para conseguir Gemcitabina en:		
100 mg/kg	0,2 ml x	25 mg/ml
50 mg/kg	0,2 ml x	12,3 mg/ml
25 mg/kg	0,2 ml x	6,21 mg/ml
Cisplatino en:		
4 mg/kg	0,2 ml x	0,5 mg/ml
2 mg/kg	0,2 ml x	0,25 mg/ml
1 mg/kg	0,2 ml x	0,12 mg/ml

Los tratamientos una vez a la semana (QW) de gemcitabina y cisplatino se administraron comenzando el tercer día a 0,5 y 1 hora, respectivamente, después de la 7ª dosis (correspondiente a poco más de dos días completos de dosificación del Compuesto A) del Compuesto A o vehículo cada semana. Las dosis más altas de gemcitabina y cisplatino se seleccionaron en función de la eficacia como agentes únicos, y diluciones de razón fija de estos se dosificaron en combinación (administración secuencial como compuestos separados): 100 mg/kg de gemcitabina +

4 mg/kg de cisplatino (100+4); 50 mg/kg de gemcitabina + 2 mg/kg de cisplatino (50+2); o 25 mg/kg de gemcitabina + 1 mg/kg de cisplatino (25+1). A los grupos de tratamiento SK-OV-3x.luc y A-2780 se les administró la terapia de combinación triple según los siguientes regímenes de dosificación. Los vehículos correspondientes se emplearon cuando no se indica ningún tratamiento.

1. HEC/TWEEN®, 0,2 ml, oral, TIDx21 / PBS, 0,2 ml+0,2 ml, IP, QWx3

2. Compuesto A, 10 (o 30) mg/kg, oral, TIDx21 / PBS, 0,2+0,2 ml, IP, QWx3

3. HEC/TWEEN®, 0.2 ml, oral, TIDx21/gemcitabina+cisplatino (25+1) mg/kg, IP, QWx3

4. HEC/TWEEN®, 0.2 ml, oral, TIDx21/gemcitabina+cisplatino (50+2) mg/kg, IP, QWx3

5. HEC/TWEEN®, 0.2 ml, oral, TIDx21/gemcitabina+cisplatino (100+4) mg/kg, IP, QWx3

6. Compuesto A, 10 (o 30) mg/kg, oral, TIDx21/gemcitabina+cisplatino, 25+1 mg/kg, IP, QWx3

7. Compuesto A, 10 (o 30) mg/kg, oral, TIDx21/gemcitabina+cisplatino, 50+2 mg/kg, IP, QWx3

8. Compuesto A, 30 mg/kg, oral, TIDx21/gemcitabina+cisplatino, 100+4 mg/kg, IP, QWx3*
* Solo estudio SK-OV-3x.luc

El volumen y el peso corporal del tumor se registraron y se analizaron dos veces por semana usando una herramienta de captura y análisis de datos. El volumen del tumor (mm^3) se estimó usando la fórmula: $v = l \times w^2 \times 0{,}536$ donde l = mayor del diámetro medido y w = menor de diámetro perpendicular. La actividad antitumoral se calculó como una reducción porcentual del volumen tumoral tratado (T) con relación al volumen tumoral de control (C) sin tratar [1-(T/C)] x 100. Los datos de volumen tumoral se transformaron a una escala logarítmica para igualar la varianza en el tiempo y en los grupos de tratamiento. Los datos logarítmicos de volumen se analizaron con un análisis de varianza de medidas repetidas bidireccionales por tiempo y por tratamiento usando los procedimientos MIXED en el software SAS (versión 8.2). El modelo de correlación para las medidas repetidas es la potencia espacial. Los grupos tratados se compararon con el grupo de control en cada punto de tiempo. El procedimiento MIXED se usó también por separado para cada grupo de tratamiento para calcular la media ajustada y el error estándar en cada punto de tiempo. Ambos análisis explican la autocorrelación dentro de cada animal y la pérdida de datos que se produce cuando los animales con tumores grandes se eliminan del estudio en una etapa temprana. La media ajustada y el error estándar se graficaron para cada grupo de tratamiento en función del tiempo. Por convención, los valores $p \leq 0{,}05$ indican diferencias significativas en el crecimiento tumoral. El porcentaje máximo de pérdida de peso y las mediciones del volumen tumoral final se presentan con la comparación estadística resultante de la inhibición del crecimiento tumoral entre los tratamientos individuales y los combinados.

El volumen tumoral promedio final de los xenoinjertos SK-OV-3x.luc tratados durante 3 semanas con el Compuesto A solo, o con combinaciones de dosis más bajas de gemcitabina y cisplatino (25+1, 50+2) administrados en un programa de una vez a la semana, no fue significativamente diferente del control con vehículo (Tabla 2). La combinación más alta de gemcitabina + cisplatino (100+4) produjo inhibición del crecimiento tumoral con relación al control con vehículo. El tratamiento conjunto de cada uno de los animales tratados con gemcitabina + cisplatino con el Compuesto A resultó en una mejora de la inhibición del crecimiento tumoral. Las combinaciones de 25+1, 50+2 y 100+4 con el Compuesto A consiguieron o superaron la respuesta antitumoral a la combinación 100+4.

El tratamiento de combinación triple de cada uno de los animales tratados con gemcitabina + cisplatino 25+1 y 50+2 con el Compuesto A resultó en una mejora de la inhibición del crecimiento tumoral sobre la combinación doble de gemcitabina + cisplatino, como se muestra en la Tabla 2. Específicamente, las combinaciones de 25+1, 50+2 y 100+4 con el Compuesto A superan significativamente la respuesta antitumoral a su combinación doble 25+1, 50+2 y 100+4 respectiva.

Tabla 2: Inhibición del crecimiento tumoral SK-OV-3x.luc con tratamientos de combinación de gemcitabina, cisplatino y compuesto A

	máx% en peso de pérdida	volumen tumoral final	Significancia (valores p)			n final
			vehículo	A	(G+C)[1]	
vehículo	0,0	505 ± 51	.	.	.	12
A	1,4	522 ± 54	NS	.	.	10

(Cont.)

25+1	5,2	407 ± 39	NS	NS	.	12
50+2	4,1	524 ± 54	NS	NS	.	12
100+4	13,7	337 ± 43	NS	0,007	.	11
25+1/A	5,4	253 ± 42	0,010	<0,001	0,002	11
50+2/A	7,7	364 ± 30	<0,001	0,021	0,017	10
100+4/A	13,1	202 ± 15	0,030 < 0,001	<0,001	0,001	11
[1]Cada combinación de gemcitabina + cisplatino (G + C) / A se compara solo con su combinación coincidente (G + C).						

En un segundo modelo, modelo A2780 de tumor de ovario, el tratamiento de combinación triple de cada uno de los animales tratados con gemcitabina + cisplatino con Compuesto A resultó en una mejora de la inhibición del crecimiento tumoral sobre la combinación doble de gemcitabina + cisplatino, como se muestra en la Tabla 3. Específicamente, las combinaciones de 25+1 y 50+2 con Compuesto A superan significativamente la respuesta antitumoral a la combinación doble 25+1 y 50+2.

Tabla 3: Inhibición del crecimiento tumoral A-2780 con tratamientos de combinación de gemcitabina, cisplatino y compuesto A

	máx% en peso de pérdida	volumen tumoral final	Significancia (valores p)			n final
			vehículo	A	(G+C)[1]	
vehículo	1,8	2.257 ± 279	.	.	.	20
A	3,0	1.828 ± 208	NS	.	.	20
25+1	4,6	536 ± 58	< 0,001	< 0,001	.	19
50+2	5,1	381 ± 39	< 0,001	< 0,001	.	19
100+4	7,4	219 ± 22	< 0,001	< 0,001	.	20
25+1/A	7,9	361 ± 34	< 0,001	< 0,001	0,009	19
50+2/A	8,6	218 ± 14	< 0,001	< 0,001	< 0,001	20
[1]Cada combinación de gemcitabina + cisplatino (G+C) / A se compara solo con su combinación coincidente (G+C). No se evalúa (100+4) en combinación con el Compuesto A						

Ejemplo 2

Terapia de combinación triple in vivo con Compuesto A, gemcitabina y carboplatino

Puede sustituirse carboplatino (25 mg/kg - 100 mg/kg) por cisplatino esencialmente como se describe en el Ejemplo 1.

Los compuestos descritos en la presente invención se formulan preferentemente como composiciones farmacéuticas administradas por una diversidad de rutas. Más preferentemente, dichas composiciones son para administración oral, intravenosa o intraperitoneal. Dichas composiciones farmacéuticas y procedimientos para preparar las mismas son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (D. Troy, et al., Eds., 21ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005).

Los compuestos de la presente invención son generalmente eficaces en un amplio intervalo de dosificación. La cantidad de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina administrada normalmente está comprendida en el intervalo de aproximadamente 100-420 mg cada 12 horas

durante 10 días, más preferentemente 100-300 mg cada 12 horas durante 10 días, y más preferentemente 200 mg cada 12 horas durante 10 días o de manera alternativa 300 mg cada 12 horas durante 10 días. Se anticipa que 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina será administrada durante al menos dos días antes del inicio del régimen con gemcitabina y cisplatino o gemcitabina y carboplatino.

Según el régimen de dosificación aprobado por la FDA, la administración combinada de gemcitabina y carboplatino debe administrarse por vía intravenosa a una dosis de 1.000 mg/m^2 durante 30 minutos los días 1 y 8 de cada ciclo de tratamiento de 21 días. El carboplatino AUC 4 debería administrarse por vía intravenosa el día 1 después de la administración de gemcitabina. Los pacientes deberían monitorizarse antes de cada dosis con un recuento sanguíneo completo, que incluye recuentos diferenciales. Los pacientes deberían tener un recuento absoluto de granulocitos ≥1.500 x 106/l y un recuento de plaquetas ≥100.000 x 106/l antes de cada ciclo.

Modificaciones de dosis

El ajuste de la dosis de gemcitabina para la toxicidad hematológica dentro de un ciclo de tratamiento se basa en los recuentos de granulocitos y plaquetas tomados el día 8 de la terapia. Si se detecta supresión medular, la dosis de gemcitabina debería modificarse según las pautas en la Tabla 4.

Tabla 4: Pautas de reducción de dosis del día 8 para gemcitabina en combinación con carboplatino

Recuento absoluto de granulocitos (x 10_6/ L)		Recuento de plaquetas (x 10_6/ L)	% de dosis completa
≥1.500	y	≥100.000	100
1.000-1.499	y/o	75.000-99.999	50
<1.000	y/o	<75.000	Mantenimiento

En general, para la toxicidad no hematológica grave (Grado 3 o 4), excepto náuseas/vómitos, la terapia con gemcitabina debería mantenerse o reducirse en un 50%, dependiendo del criterio del médico tratante. Para el ajuste de la dosis de carboplatino, véase la información de prescripción del fabricante.

El ajuste de la dosis para gemcitabina en combinación con carboplatino para ciclos posteriores se basa en la toxicidad observada. La dosis de gemcitabina en ciclos posteriores debería reducirse a 800 mg/m^2 los días 1 y 8 en caso de cualquiera de las siguientes toxicidades hematológicas:

- Recuento absoluto de granulocitos < 500 x 10^6/l durante más de 5 días
- Recuento absoluto de granulocitos < 100 x 10^6/l durante más de 3 días de neutropenia febril
- Plaquetas < 25.000 x 10^6/l
- Retraso del ciclo de más de una semana debido a la toxicidad

Si cualquiera de las toxicidades anteriores se repite después de la reducción de la dosis inicial, para el ciclo subsiguiente, la gemcitabina debería administrarse el día 1 solo a 800 mg/m^2.

Se cree que el cisplatino podría administrarse de manera similar al carboplatino.

En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo indicado anteriormente pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos pueden emplearse dosis todavía mayores sin causar ningún efecto secundario dañino y, por lo tanto, el intervalo de dosificación anterior no pretende limitar en modo alguno el alcance de la invención. Se entenderá que la cantidad del compuesto administrado realmente será determinada por un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, incluyendo la afección a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto o compuestos reales administrados, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, y la gravedad de los síntomas del paciente.

REIVINDICACIONES

1. 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en terapia de combinación con gemcitabina y un agente de platino seleccionado de entre cisplatino y carboplatino en el tratamiento del cáncer de ovario.

2. 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, en la que la administración de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, precede a la de la gemcitabina y a la del agente de platino.

3. 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1 o 2, en la que la gemcitabina y el agente de platino se administran hasta 2 días después de la administración de 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro]-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y la gemcitabina se administra de nuevo hasta 7 días después.

4. 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, en la que la administración de la gemcitabina y del agente de platino precede a la de la 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetilpropil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sale farmacéuticamente aceptable de la misma.

5. 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según las reivindicaciones 1-2, en la que la gemcitabina y el agente de platino se administran simultáneamente.

6. 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que el agente de platino es cisplatino.

7. 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que el agente de platino es carboplatino.

8. 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 durante un ciclo de tratamiento de 21 días.

9. 5-[2-tert-butil-5-(4-fluoro-fenil)-1H-imidazol-4-il]-3-(2,2-dimetil-propil)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la que la sal farmacéuticamente aceptable es la sal dimetanosulfonato.

.