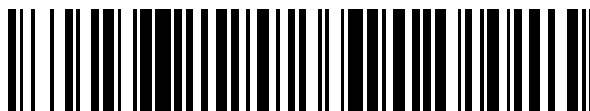


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 726 401**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/4045** (2006.01)

**A61P 19/08** (2006.01)

**A61P 19/10** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.05.2008 PCT/US2008/064944**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.12.2008 WO08150782**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.05.2008 E 08756347 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 2162129**

54 Título: **Uso de inhibidores de HDAC para el tratamiento de la destrucción ósea**

30 Prioridad:

**30.05.2007 US 940735 P**

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

**04.10.2019**

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)  
Lichtstrasse 35  
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**ATADJA, PETER, WISDOM;  
GROWNEY, JOSEPH, DANIEL y  
SHAO, WENLIN**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 726 401 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

Uso de inhibidores de HDAC para el tratamiento de la destrucción ósea

5 Campo técnico de la invención

La invención se refiere al uso de un inhibidor de histona desacetilasa (HDAC), que es N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para la fabricación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la destrucción ósea asociada con el cáncer. La presente invención también se refiere al inhibidor de HDAC, N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de la destrucción ósea asociada con el cáncer.

15 Antecedentes de la invención

El recambio óseo normal está regulado por el equilibrio entre la actividad osteolítica de los osteoclastos y la actividad de formación de hueso de los osteoblastos. La integridad ósea puede verse comprometida en pacientes con cáncer, enfermedades inflamatorias y osteoporosis. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar nuevos métodos de tratamiento con inhibidores de HDAC.

20 Feng et al (Blood, 2006, 108: Abstract 3477) divulgan el efecto del nuevo inhibidor de HDAC basado en mercaptoacetona, KD5170, sobre la formación de osteoclastos de pacientes con mieloma múltiple (MM) y también divulga una actividad antiproliferativa en sobre la línea celular U266 de MM.

25 Feng et al (Blood, 2006 108: Abstract 507) divulgan el efecto de una combinación de bortezomib y el inhibidor de HDAC PDX101 sobre líneas celulares de mieloma múltiple *in vitro* y en un modelo de tumor de xenoinjerto *in vivo*.

Sumario de la invención

30 La acetilación reversible de histonas es un importante regulador de la expresión génica que actúa alterando la accesibilidad de los factores de transcripción al ADN. En células normales, la histona desacetilasa (HDAC) y la histona acetiltransferasa controlan juntas el nivel de acetilación de las histonas para mantener un equilibrio. La inhibición de HDAC da como resultado la acumulación de histonas hiperacetiladas, lo que resulta en una variedad de respuestas celulares.

35 Sorprendentemente, ahora se encontró que los inhibidores de HDAC, especialmente el compuesto de fórmula (III), como se define en el presente documento, tratan la destrucción ósea asociada con el cáncer. Más específicamente, el cáncer es mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata. Por lo tanto, la invención se refiere al uso del inhibidor de HDAC, N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la destrucción ósea asociada con un cáncer que es mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata. La invención también se refiere al inhibidor de HDAC, N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de la destrucción ósea asociada con un cáncer que es mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata.

45 Por tanto, la invención proporciona el uso del inhibidor de HDAC, N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para la preparación de un medicamento:

50 - para el tratamiento de la destrucción ósea causada por un cáncer proliferativo en el que la enfermedad se selecciona de mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata;

- para la prevención de la destrucción ósea causada por un cáncer proliferativo en el que la enfermedad se selecciona de mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata; y

55 - para el tratamiento y la prevención de la destrucción ósea causada por un cáncer proliferativo en el que la enfermedad se selecciona de mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata.

60 La presente invención también proporciona el inhibidor de HDAC, N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma,

- para su uso en el tratamiento de la destrucción ósea causada por un cáncer proliferativo en el que la enfermedad se selecciona de mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata;

65 - para su uso en la prevención de la destrucción ósea causada por un cáncer proliferativo en el que la enfermedad se selecciona de mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata; y

- para su uso en el tratamiento y la prevención de la destrucción ósea causada por un cáncer proliferativo en el que la enfermedad se selecciona de mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata.

5 La divulgación se refiere a un método para tratar animales de sangre caliente que incluyen mamíferos, especialmente seres humanos, que sufren destrucción ósea asociada con cáncer mediante la administración a dicho animal que necesita dicho tratamiento de una dosis eficaz contra dicha enfermedad de un inhibidor de HDAC o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Descripción detallada de las figuras

10

La Figura 1 ilustra los efectos de LBH589 sobre la carga tumoral y el peso corporal en el Estudio # 0879.

La Figura 2 ilustra los efectos de LBH589 sobre la carga tumoral y el peso corporal en el Estudio # 0942.

15

La Figura 3 ilustra los efectos de LBH589 sobre el tiempo hasta el punto final clínico en el Estudio # 0942.

La Figura 4 ilustra la exploración con MicroCT y la región de interés para la medición del hueso trabecular.

20

La Figura 5 describe los efectos de LBH589 sobre el hueso trabecular tibial en los estudios # 879 y # 0942.

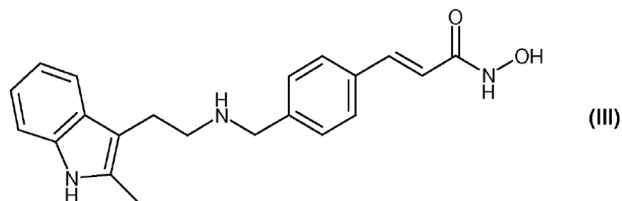
La Figura 6 describe los efectos de LBH589 en el hueso cortical tibial.

La Figura 7 describe los efectos de LBH589 sobre el biomarcador en suero TRACP5b (0879).

25

Descripción detallada de la invención

El compuesto inhibidor de HDAC para uso en la invención es



30

, es decir, el compuesto que es N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35

El compuesto descrito anteriormente se usa a menudo en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando sea apropiado, sales de adición de base y sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, sales metálicas, tales como sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, sales de amonio, sales de adición de aminas orgánicas y sales de adición de aminoácidos y sales de sulfonato. Las sales de adición de ácido incluyen sales de adición de ácido inorgánico, tales como clorhidrato, sulfato y fosfato; y sales de adición de ácidos orgánicos, tales como sulfonato de alquilo, sulfonato de arilo, acetato, maleato, fumarato, tartrato, citrato y lactato. Ejemplos de sales metálicas son sales de metales alcalinos, tales como sal de litio, sal de sodio y sal de potasio; sales de metales alcalinotérreos, tales como sal de magnesio y sal de calcio, sal de aluminio y sal de zinc. Ejemplos de sales de amonio son sal de amonio y sal de tetrametilamonio. Ejemplos de sales de adición de aminas orgánicas son sales con morfolina y piperidina. Ejemplos de sales de adición de aminoácidos son sales con glicina, fenilalanina, ácido glutámico y lisina. Las sales de sulfonato incluyen sales de mesilato, tosilato y ácido benceno sulfónico.

45

Este inhibidor de HDAC y su síntesis se divulgan en el documento WO 02/22577.

50

Un inhibidor de HDAC como se usa en la presente invención muestra en el ensayo descrito anteriormente, preferiblemente un valor de IC<sub>50</sub> entre 50 y 2.500 nM, más preferiblemente entre 250 y 2.000 nM, y lo más preferiblemente entre 500 y 1.250 nM.

55

El término "tratamiento", como se usa en este documento, comprende el tratamiento de pacientes con destrucción ósea causada por cáncer, enfermedades inflamatorias y osteoporosis.

En una realización, N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se usa para tratar la destrucción ósea asociada con el mieloma múltiple. Por lo tanto, la invención se refiere al uso de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida o

una de sus sales farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la destrucción ósea asociada con el mieloma múltiple. La invención también se refiere al uso de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en el tratamiento de la destrucción ósea asociada con el mieloma múltiple. La divulgación se refiere a un método para tratar animales de sangre caliente que incluyen mamíferos, especialmente seres humanos, que sufren destrucción ósea asociada con mieloma múltiple administrando a dicho animal que necesita dicho tratamiento una dosis efectiva contra dicha enfermedad de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En otra realización, N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se usa para tratar la destrucción ósea asociada con el cáncer de mama. Por lo tanto, la invención se refiere al uso de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la destrucción ósea asociada con el cáncer de mama. La invención también se refiere al uso de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en el tratamiento de la destrucción ósea asociada con el cáncer de mama. La divulgación se refiere a un método para tratar animales de sangre caliente que incluyen mamíferos, especialmente seres humanos, que sufren destrucción ósea asociada con cáncer de mama al administrar a dicho animal que necesita dicho tratamiento una dosis eficaz contra dicha enfermedad de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En otra realización, N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se usa para tratar la destrucción ósea asociada con el cáncer de próstata. Por lo tanto, la invención se refiere al uso de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la destrucción ósea asociada con el cáncer de próstata. La invención también se refiere al uso de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en el tratamiento de la destrucción ósea asociada con el cáncer de próstata. La divulgación se refiere a un método para tratar animales de sangre caliente, incluidos mamíferos, especialmente seres humanos, que sufren destrucción ósea asociada con el cáncer de próstata mediante la administración a dicho animal que necesita dicho tratamiento de una dosis eficaz contra dicha enfermedad de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida o una sal farmacéutica mente aceptable de la misma.

El experto en la técnica pertinente está completamente habilitado para seleccionar modelos de prueba relevantes para probar los efectos beneficiosos mencionados en este documento. La actividad farmacológica de tal compuesto puede, por ejemplo, demostrarse por medio de los ejemplos descritos a continuación, mediante pruebas *in vitro* y pruebas *in vivo* o en estudios clínicos adecuados. La eficacia del tratamiento se determina en estos estudios, por ejemplo, mediante la evaluación de los tamaños de los tumores cada 4 semanas, con el control logrado con placebo.

La dosis efectiva del inhibidor de HDAC puede variar dependiendo del compuesto particular o la composición farmacéutica empleada, del modo de administración, del tipo de enfermedad que se esté tratando o de su gravedad. El régimen de dosificación se selecciona de acuerdo con una variedad de factores adicionales que incluyen la función renal y hepática del paciente. Un médico, clínico o veterinario con experiencia ordinaria puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad efectiva de compuestos necesarios para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección.

#### Ejemplo 1

Se inyectaron ratones hembra SCID-beige con células MM1S ( $2 \times 10^6$ ) por vía intravenosa (iv) en la vena de la cola en el día 0. El tratamiento se inició en el día 10 cuando la carga tumoral promedio, según lo determinado por bioluminiscencia, alcanzó aproximadamente  $8,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$  fotones por segundo. Todos los grupos de tratamiento consistieron en 8 animales. LBH589 se administró a razón de 15 mg/kg ip qdX5 durante 3 semanas en el primer estudio. En el segundo estudio, LBH589 se administró a razón de 10 mg/kg ip qdX5 durante 6 semanas y 20 mg/kg ip qdX5 durante 5 semanas. La carga tumoral y el peso corporal se registraron una vez a la semana durante el período de dosificación activa. Las imágenes en tomografía microcomputarizada (microCT) se adquirieron en animales vivos el día 32 y 33 (Estudio # 1) o los días 34 y 35 (Estudio # 2). En el segundo estudio, los animales se monitorizaron individualmente hasta el logro del punto final clínico.

#### Análisis microCT o $\mu$ CT *in vivo*

Los animales se anestesiaron con un 2% de isoflurano mezclado con oxígeno (2 L/min) y luego se colocaron en un soporte para ratones (hecho a medida, Peter Ingold, NIBR Basilea) diseñado específicamente para alinear ambas tibias y se montaron en un escáner microCT de alta resolución *in vivo* (VivaCT40, Scanco, Suiza). Para asegurar la colocación correcta del ratón, se tomó una vista exploratoria de los huesos de tibia bilaterales y las articulaciones de la rodilla y la región de interés (ROI, 2,23 mm de longitud) se colocó para comenzar en la placa de crecimiento que se extiende distalmente sobre el área del hueso trabecular (Figura 3). El escáner se ajustó a un tamaño de vóxel isotrópico

nominal de 21  $\mu\text{m}$ , referido a resolución media/estándar. El tubo de rayos X se operó a 55 kVp y 145 mA con un tamaño de punto focal de 5  $\mu\text{m}$ . Se obtuvieron quinientas imágenes de proyección por escaneo con un tiempo de integración de 180 ms. Las imágenes tomográficas se reconstruyeron en un grupo de VMS (HP Alpha, HP, Palo Alto, EE. UU.) en matrices de 1024 x 1024 píxeles mediante un procedimiento de retroproyección de haz cónico que dio como resultado 315 cortes axiales.

Para la determinación de las características del hueso trabecular y cortical, se colocó una región de interés de 2,23 mm para iniciar en la placa de crecimiento que se extiende distalmente. Se obtuvieron 106 cortes axiales utilizando un escáner  $\mu\text{-CT}$  VivaCT40 (SCANCO, Suiza) con 55 kv, 145 mA, 180 ms de tiempo de integración y 21  $\mu\text{m}$  de resolución. La densidad ósea trabecular (BV/TV) se midió en una región de 0,735 mm de una tibia (9 cortes proximales y 25 cortes distales de la tuberosidad tibial) utilizando el software SCANCO (SCANCO, Suiza) usando un umbral de 275 para definir el volumen de hueso calcificado (BV). La densidad ósea cortical (BV/TV) se midió en una región de 1,5 mm de una tibia (15 cortes proximales y 55 cortes distales de la tuberosidad tibial) utilizando el software SCANCO (SCANCO Suiza) con un umbral de 275. Se realizó un análisis tridimensional en las regiones determinadas utilizando el software operativo SCANCO. Todos los grupos de tratamiento se escanearon en el transcurso de dos días, con la misma cantidad de animales de cada grupo de tratamiento escaneado cada día.

Análisis del biomarcador en suero

Se evaluó un marcador en suero del metabolismo óseo, TRACP5B, para determinar los cambios en el suero del ratón. El kit de ensayo MouseTRAP<sup>MR</sup> es un ensayo de ELISA (cat. # SB-TR103, IDS Fountain Hills, AZ). Brevemente, los anticuerpos policlonales de ratón TRACP5B se incuban en placas de 96 pocillos recubiertos con anti-IgG de conejo. Este kit de ELISA es específico para TRACP5B de ratón solamente. Este ensayo tiene una sensibilidad reportada de 0,1 U/L.

Efectos de LBH589 sobre la carga tumoral

Después de la inyección en la vena de la cola, las células MM1S proliferaron y la carga tumoral aumentó de 1.400 a 2.300 veces, según lo determinado por la lectura bioluminiscente. Las células MM1S se localizan en el hueso y producen lesiones óseas multifocales en las vértebras, costillas, cráneo, pelvis y huesos largos consistente con la presentación clínica humana.

El cambio relativo medio en la carga tumoral expresada como flujo de luciferasa (fotones por segundo) se muestra en las Tablas 1 y 2:

Tabla 1. Resumen de las respuestas para el Estudio # 0879, 31 días después de la implantación

Fármacos			Tumores				Animales		
Compuesto	Régimen y ruta	Dosis (mg/kg)	Cambio de la carga tumoral media (fotones/s) (media $\pm$ SEM)		% T/C	% Regresión	% de cambio de peso corporal	muerte/ Total	
Vehículo	D5W, IP, qdx5	N/A	1,3E + 9	$\pm$	261,8E + 6	NE	NE	-3,8 6 1,47	0/8
LBH589	IP, qdx5	15	292,4E+6	$\pm$	92,6E+6	22	Ninguno	-10,5 6 0,99	1/8

Los tratamientos se iniciaron en el día 10 posterior a la implantación en la cola en forma iv (2,0 millones de células/animal). LBH589 se administró por vía ip, a razón de 15 mg/kg, 5 veces por semana durante 3 semanas. El control del vehículo (D5W) se administró por vía ip veces por semana, durante 3 semanas. Tamaño inicial del grupo: 8 animales. Los datos finales de eficacia y el cambio de peso corporal se calcularon 72 horas después de la última dosis.

Tabla 2. Resumen de las respuestas para el Estudio # 0942, 35 días después de la implantación

Fármacos			Tumores			Animales			
Compuesto	Régimen y ruta	Dosis (mg/kg)	Cambio de la carga tumoral media (fotones/s) (media $\pm$ SEM)		% T/C	% de regresión	% de cambio de peso corporal	muerte/ Total	
Vehículo	D5W, IP, qdx5	N/A	1,1E+9	$\pm$	171,4E+6	NE	NE	2 $\pm$ 1,81	1/8
LBH589	IP, qdx5	10	348,5E+6	$\pm$	49,6E+6	31	Ninguno	-11,3 $\pm$ 0,89	0/8
LBH589	IP, qdx5	20	107,7E+6	$\pm$	42,6E+6	9	Ninguno	-13,1 $\pm$ 1,22	0/8

Los tratamientos se iniciaron en el día 10 posterior a la implantación en la cola por vía iv (2,0 millones de células/animal). LBH589 se administró por vía ip, a razón de 10 o 20 mg/kg, 5 veces por semana durante 4 semanas. El control del vehículo (D5W) se administró por vía ip veces por semana, durante 3 semanas. Tamaño inicial del grupo: 8 animales.

Los análisis estadísticos de la carga tumoral final se presentan en las Tablas 3 y Tabla 4.

Tabla 3. Estadística 0879 del cambio de la carga tumoral el día 31

Tratamientos (#0879)	Vehículo	LBH589 (15)
Vehículo	X	S
LBH589 (15)		x
Prueba t de Student S = P < 0,01		

Tabla 4. Estadística 0942 del cambio de la carga tumoral el día 35

Tratamientos (#0879)	Vehículo	LBH589 (10)	LBH589 (20)
Vehículo	X	S	S
LBH589 (10)		X	NS
LBH589 (20)			X
ANOVA + Prueba Post-hoc del método de Dunnett S = P < 0,05 NS = No Significativo			

5 Como se ilustra en la Figura 1, Figura 2, Tabla 1 y Tabla 2, la carga tumoral aumentó más de 1.400 veces durante el período posterior a la implantación de 4-5 semanas en los grupos de controles tratados con D5W en el Estudio # 0879 y más de 2.300 veces durante el período posterior a la implantación de 5 semanas en los grupos de control tratados con D5W en el Estudio # 0942.

10 Con respecto a la Figura 2, los tratamientos se iniciaron en el día 11 posterior a la implantación en la cola por vía iv (2,0 millones de células/animal). Se administró NVP-LBH589-CU por vía ip, a razón de 15 mg/kg (A), o 10 y 20 mg/kg (B), 5 veces a la semana (qd x 5/semana) durante 4 semanas. El control del vehículo (D5W) se administró por vía ip 5 veces a la semana (qd x 5/semana), durante 4 semanas. Bortezomib se administró por vía iv, a razón de 0,2 mg/kg, una vez por semana (qwk) o 1 mg/kg, dos veces por semana en el Estudio # 0879 durante 4 semanas (biwk) (B). Tamaño inicial del grupo: 8 animales. Los datos finales de eficacia se muestran en el panel A para el Estudio # 0879 y en el panel B para el Estudio # 0942. Los cambios en el peso corporal se calcularon en 24 horas después de la última dosis para cada estudio (paneles de la derecha).

20 El tratamiento con LBH589 a razón de 15 mg/kg qdX5 solo resultó en una reducción de la carga tumoral de aproximadamente el 78% en el día 31 en el Estudio # 0879. El tratamiento con LBH589 a razón de 10 mg/kg qdX5 o 20 mg/kg qdX5 solo resultó en una reducción de la carga tumoral en ~79% y ~91%, respectivamente en el día 35 en el Estudio # 0942. La reducción de la carga tumoral por LBH589 fue estadísticamente significativa en ambos estudios.

25 Efectos de LBH589 sobre el tiempo hasta el punto final

La capacidad de LBH589 para extender el tiempo hasta el punto final clínico se evaluó en el Estudio # 0942. Cada animal se controló diariamente para determinar la progresión de los signos de progresión de la enfermedad, incluida la movilidad y la salud general. Los animales se puntuaron en una escala clínica de 0-4. El punto final se logró cuando los animales obtuvieron una puntuación clínica de 3. Los efectos de LBH589 en el aumento del tiempo hasta el punto final se muestran en la Figura 3 y la Tabla 5:

Tabla 5. Efecto de LBH589 sobre la mediana del tiempo hasta el punto final clínico

Tratamiento	N fallados	N eliminados	Mediana (días)	95% de CI
Vehículo	8	0	37	(34, 38)
LBH589 a razón de 10 mg/kg	8	0	54	(49, 56)
LBH589 a razón de 20 mg/kg	5*	1**	61	(58, -)
* Se encontraron 2 animales muertos el día 45 después de la implantación. Los animales mostraron un 15% de pérdida de peso corporal y distensión abdominal, pero no síntomas clínicos de enfermedad ósea antes de la muerte. Las muertes se consideraron relacionadas con el tratamiento y se eliminaron del análisis. ** Un animal no mostró signos de enfermedad a los 80 días después de la implantación y fue eliminado				

35 Dos de los ocho animales tratados con LBH589 a razón de 20 mg/kg que murieron en el día 45 no mostraron signos de enfermedad ósea antes de la muerte y se consideraron muertes relacionadas con el tratamiento. Estos animales fueron retirados del análisis debido a muertes relacionadas con el tratamiento. Uno de los seis animales restantes no presentó ningún síntoma de enfermedad 80 días después del implante, cuando se terminaron las observaciones y se eliminó en el análisis del punto final. La mediana de tiempo hasta el punto final para los animales tratados con vehículo fue de 37 días. La dosis de LBH589 a razón de 10 y 20 mg/kg resultó en una mediana de tiempo hasta el punto final clínico de 54 y 61 días, respectivamente. El aumento de la respuesta a la dosis en la mediana de tiempo hasta alcanzar el punto final fue significativamente diferente, como lo demuestran los intervalos de confianza del 95% que no se superponen.

Efectos de LBH589 sobre el hueso trabecular

Se usó MicroCT para evaluar los efectos sobre el hueso trabecular de LBH589 en ratones portadores de tumores MM1S. Las regiones de interés y las imágenes representativas se muestran en la Figura 4.

La Figura 4 describe una región de interés de 2,3 mm que se colocó para comenzar en la placa de crecimiento que se extiende distalmente. Se obtuvieron 106 cortes axiales utilizando un escáner  $\mu$ -CT VivaCT40 (SCANCO, Suiza) con 55 kv, 145 mA, 180 ms de tiempo de integración y 21  $\mu$ m de resolución. La densidad ósea trabecular, el volumen óseo/volumen total (BV/TV), se midió en una región de 0,735 mm de una tibia (10 cortes proximales y 25 cortes distales de la tuberosidad tibial) utilizando el software SCANCO (SCANCO, Suiza) con un umbral de 275. La densidad ósea cortical, el volumen óseo/volumen total (BV/TV), se midió en una región de 1,5 mm de una tibia (15 cortes proximales y 55 cortes distales de la tuberosidad tibial) utilizando el software SCANCO (SCANCO Suiza) con un umbral de 275.

La densidad ósea trabecular media (BV/TV) y el porcentaje de cambio (tratado como un porcentaje del control) se muestran en la Figura 5 y en las Tablas 6 y 7.

Tabla 6. Cambio de la densidad trabecular media del Estudio # 0879

Tratamientos	Vehículo	LBH589 (15 mg/kg)
Número de valores	8	7
Media	2,23	14,48
Error estándar	0,344	1,97
% de cambio medio relativo tratado/vehículo	n/a	549%

Tabla 7. Cambio de la densidad trabecular media del Estudio # 0942

Tratamientos	Vehículo	LBH589 (10 mg/kg)	LBH589 (20 mg/kg)
Número de valores	8	8	8
Media	0,64	8,23	12,89
% de cambio medio relativo tratado/vehículo	n/a	1.186%	1.914%

El análisis estadístico de la densidad ósea trabecular se presenta en las Tablas 8 y 9.

Tabla 8. Análisis estadístico del Estudio # 0879 de la densidad ósea trabecular

Tratamientos	Vehículo	LBH589 (15 mg/kg)
Vehículo	X	S
LBH589 (15)		X
Prueba t de Student		
S = P < 0,05		

Tabla 9. Análisis estadístico del Estudio # 0942 de la densidad ósea trabecular

Tratamientos (# 0879)	Vehículo	LBH589 (10 mg/kg)	LBH589 (20 mg/kg)
Vehículo	X	S	S
LBH589 (10)		X	S
LBH589 (20)			X
Prueba de Wilcoxon/Kruskal-Wallis con comparación múltiple Post-hoc de Tukey-Kramer S = P < 0,05			

La LBH589 a razón de 15 mg/kg dio como resultado un aumento de 5,5 veces estadísticamente significativo en la densidad ósea trabecular media después de 3 semanas de tratamiento. En el Estudio # 0942, la LBH589 administrada a razón de 10 y 20 mg/kg resultó en un aumento estadísticamente significativo en la densidad ósea trabecular media de 11,8 y 19,1 veces, respectivamente, después de 4 semanas de tratamiento.

La Figura 5 describe que se analizó la densidad ósea trabecular (% BV/TV). En los paneles A y B, los gráficos de barras representan el promedio de la media  $\pm$  SEM de la densidad ósea trabecular tibial (% BV/TV) para los Estudios # 0879 y # 0942. Los paneles de la derecha son los resultados de los animales individuales que se representan en los gráficos anteriores. \* indica significancia estadística del control del vehículo en el mismo punto de tiempo ( $p < 0,05$ ).

Efectos de LBH589 sobre el hueso cortical

Los efectos sobre el hueso cortical de LBH589 como un agente único se evaluaron mediante análisis microCT en el Estudio # 0879. El análisis cuantitativo de la densidad ósea cortical y sus diferencias relativas para el Estudio # 0879 se representan en la Figura 6 y la Tabla 10.

Tabla 10. Cambio de la densidad cortical media del Estudio # 0879

Tratamientos	Vehículo	LBH589 (15 mg/kg)
Número de valores	8	7

(continuación)

Tratamientos	Vehículo	LBH589 (15 mg/kg)
Media	88,7%	98,3%
Error estándar	1,4%	0,4%
% de cambio medio relativo tratado/vehículo	N/A	10,8%

- 5 El análisis estadístico se presenta en la Tabla 11. El tratamiento con LBH589 dio como resultado un aumento estadísticamente significativo del 10,8% en la densidad ósea cortical con respecto a los animales tratados con vehículo.

Tabla 11. Análisis estadístico del Estudio # 0879 de la densidad ósea cortical

Tratamientos	Vehículo	LBH589 (15 mg/kg)
Vehículo	X	S
LBH589 (15 mg/kg)		X
Prueba t de Student		
S = P < 0,0001		

- 10 Evaluación del biomarcador en suero

Los niveles en suero de TRACP5B se evaluaron como una medida de la actividad de los osteoclastos. El nivel de un TRACP5B se analizó en la Figura 7 y la Tabla 12.

- 15

Tabla 12. Cambio medio del Estudio # 0879 \ Niveles en suero de TRACP5B

Tratamientos	Vehículo	LBH589 (15 mg/kg)
Número de valores	8	5
Media	12,0	7,1
Error estándar	1,3	1,1
% de cambio medio relativo tratado/vehículo	n/a	-41%

El biomarcador en suero TRACP5b se analizó como se describe en los Métodos. En el panel de la izquierda, el gráfico de barras representa el promedio de la media  $\pm$  SEM. \* indica significación estadística de los controles ( $p < 0,05$ ).

- 20 Los niveles en suero de TRACP5B en este estudio disminuyeron significativamente en un 41% en los animales tratados con LBH589 solo en comparación con los animales tratados con vehículo, Tabla 13:

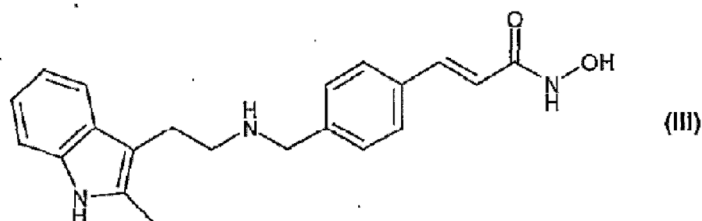
Tabla 13. Análisis estadístico del Estudio # 0879 de los niveles en suero de TRACP5B

Tratamientos	Vehículo	LBH589 (15 mg/kg)
Vehículo	X	S
LBH589 (15)		X
Prueba t de Student		
S = P < 0,05		

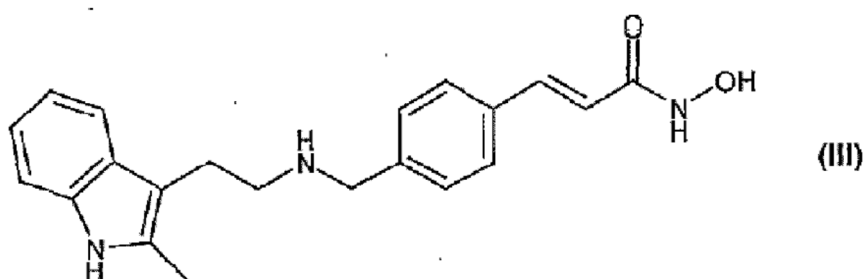


## REIVINDICACIONES

1. Uso de un inhibidor de la histona desacetilasa (HDAC) para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de la destrucción ósea causada por una enfermedad proliferativa, en la que la enfermedad proliferativa se selecciona de mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata, en donde el inhibidor de HDAC es N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida que tiene la fórmula ( III):



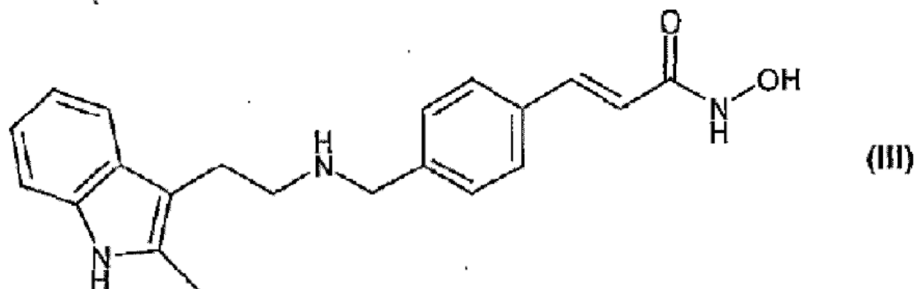
- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la destrucción ósea causada por una enfermedad proliferativa.
- 15 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 para la preparación de un medicamento para la prevención de la destrucción ósea causada por una enfermedad proliferativa.
4. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la enfermedad proliferativa es mieloma múltiple.
- 20 5. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la enfermedad proliferativa es cáncer de mama.
6. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la enfermedad proliferativa es cáncer de próstata.
- 25 7. Un inhibidor de la histona desacetilasa (HDAC) para su uso en el tratamiento y/o prevención de la destrucción ósea causada por una enfermedad proliferativa, en la que la enfermedad proliferativa se selecciona de mieloma múltiple, cáncer de mama o cáncer de próstata, en la que el inhibidor de la HDAC es N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]fenil]-2E-2-propenamida que tiene la fórmula (III):
- 30



- 35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
8. El inhibidor de HDAC para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el uso es el uso en el tratamiento de la destrucción ósea causada por una enfermedad proliferativa.
9. El inhibidor de HDAC para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el uso es el uso en la prevención de la destrucción ósea causada por una enfermedad proliferativa.
- 40 10. El inhibidor de HDAC para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en el que la enfermedad proliferativa es mieloma múltiple.
- 45 11. El inhibidor de HDAC para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en el que la enfermedad proliferativa es cáncer de mama.

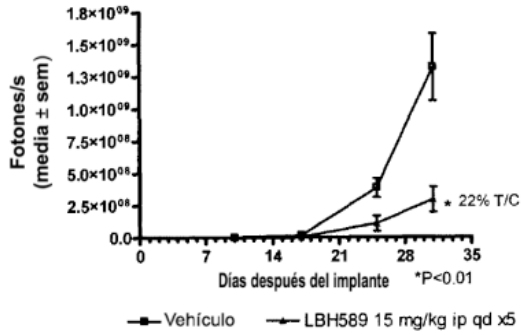
12. El inhibidor de HDAC para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en el que la enfermedad proliferativa es cáncer de próstata.

5 13. El inhibidor de la histona desacetilasa (HDAC) que es N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida que tiene la fórmula (III):

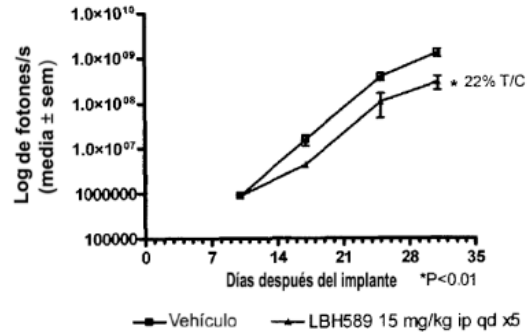


10 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su uso en el tratamiento de la destrucción ósea causada por mieloma múltiple.

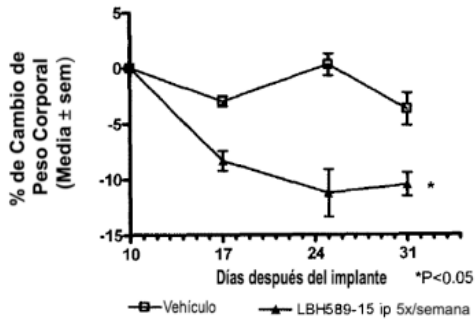
**A. Carga Tumoral**



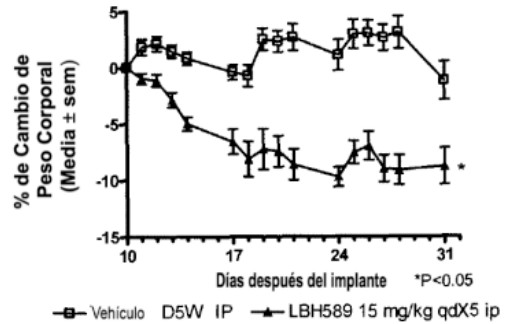
**B. Log de la Carga Tumoral**



**C. Cambio del Peso Corporal**



**D. Cambio del Peso Corporal**



**Figura 1**

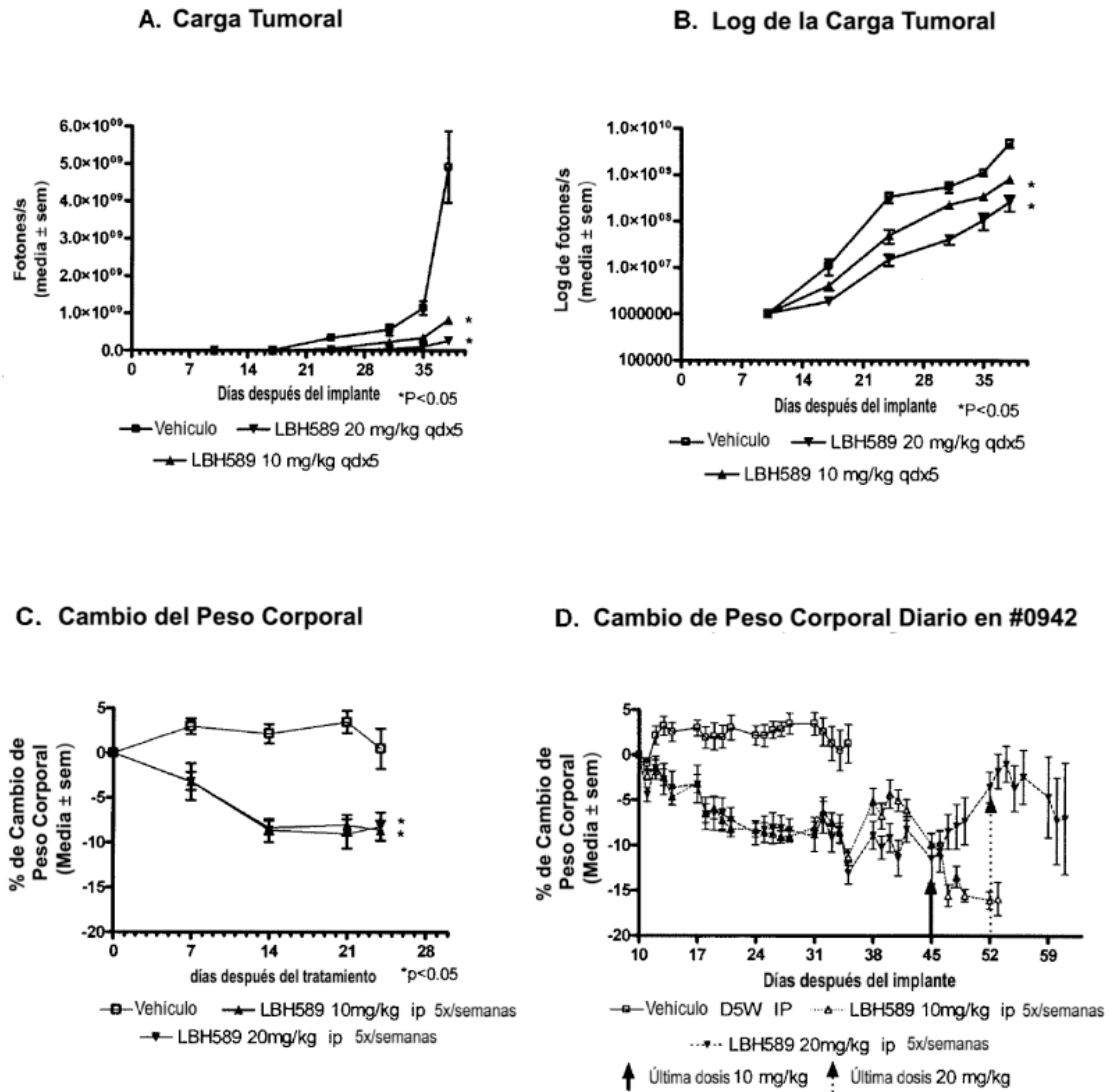
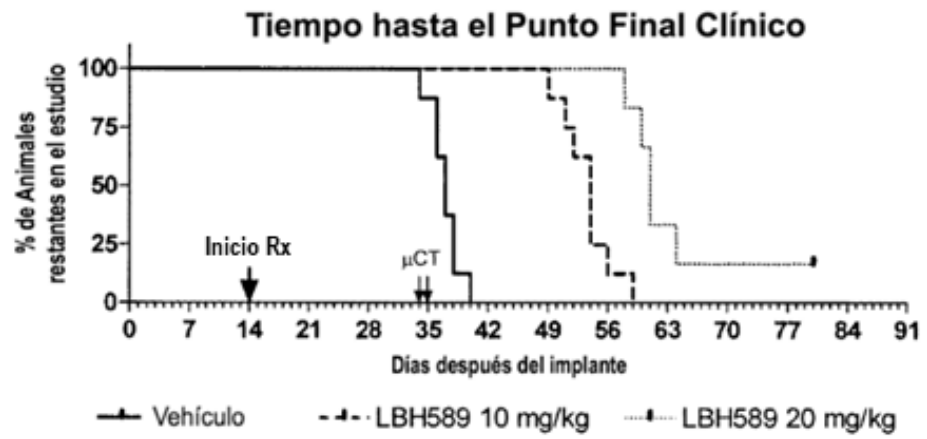
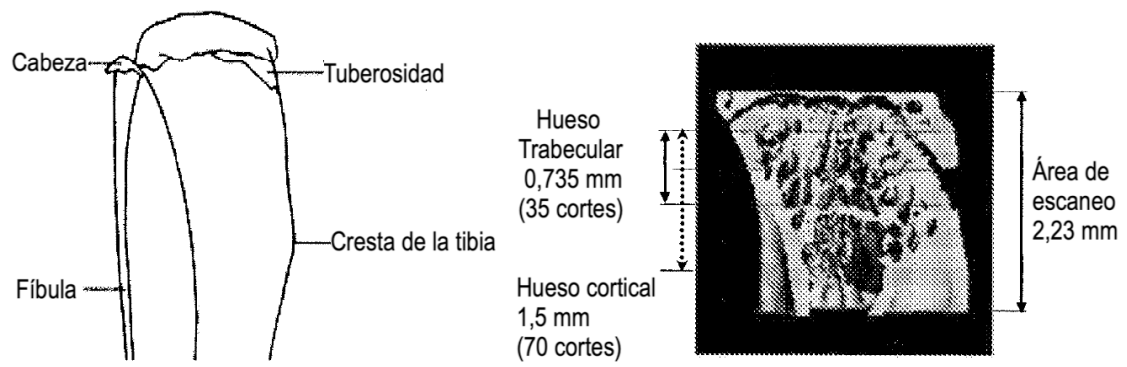


Figura 2

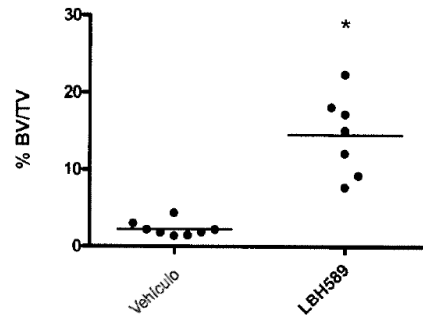
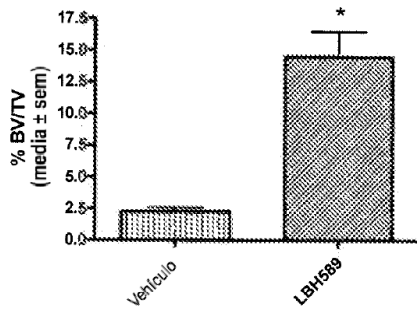


**Figura 3**

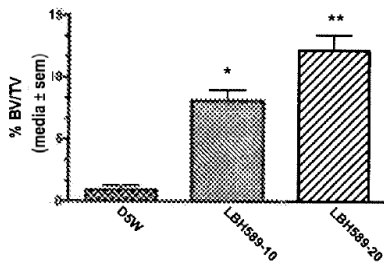


**Figura 4**

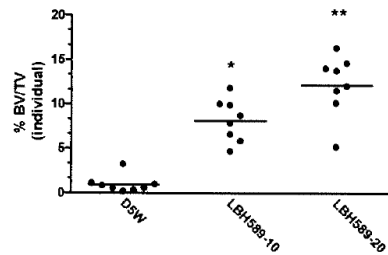
**A. Estudio #0879**



**B. Estudio #0942**



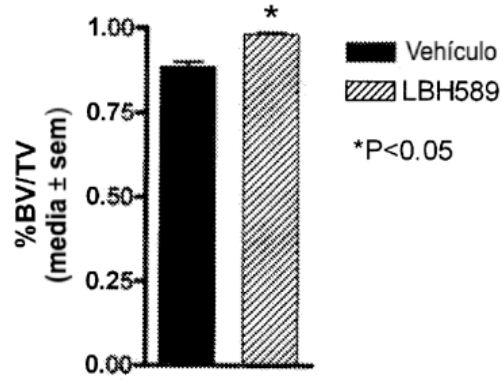
\*P<0,05 vs Vehículo y LBH589 a razón de 20 mg/kg  
 \*\*P<0,05 vs Vehículo y LBH589 a razón de 10 mg/kg



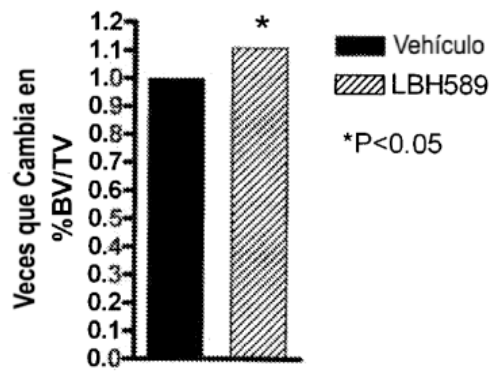
\*P<0,05 vs Vehículo y LBH589 a razón de 20 mg/kg  
 \*\*P<0,05 vs Vehículo y LBH589 a razón de 10 mg/kg

**Figura 5**

**A. Efectos de LBH589 sobre la Densidad Ósea Cortical Tibial (% Volumen Óseo Dividido por el Volumen Total)**



**B. Veces que Cambia en Forma Relativa la Densidad Ósea Cortical Tibial**



**Figura 6**



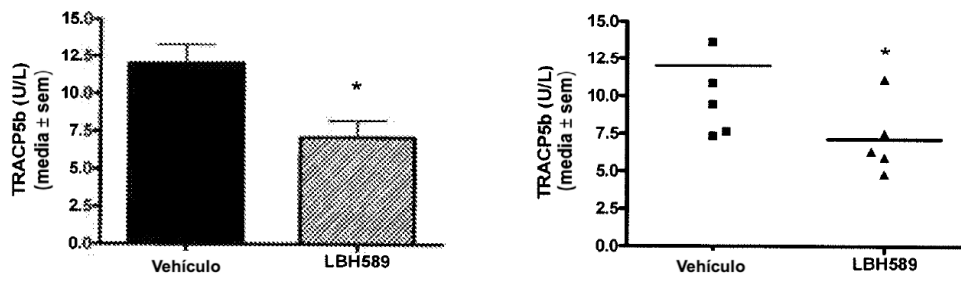


Figura 7