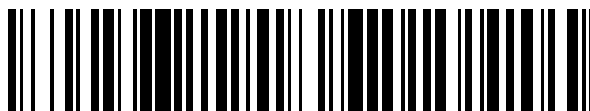


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 728 739**

51 Int. Cl.:

A61K 31/436 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.02.2002** **E 18155644 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019** **EP 3351246**

54 Título: **Derivado de rapamicina para el tratamiento de un tumor sólido asociado con angiogénesis desregulada**

30 Prioridad:

19.02.2001 GB 0104072

17.10.2001 GB 0124957

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

28.10.2019

73 Titular/es:

NOVARTIS PHARMA AG (50.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH y

NOVARTIS INTERNATIONAL PHARMACEUTICAL AG (50.0%)

72 Inventor/es:

LANE, HEIDI;

O'REILLY, TERENCE y

WOOD, JEANETTE MARJORIE

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 728 739 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).

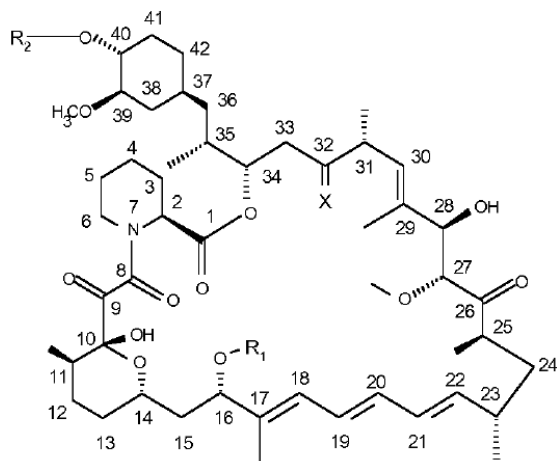
DESCRIPCIÓN

Derivado de rapamicina para el tratamiento de un tumor sólido asociado con angiogénesis desregulada

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un nuevo uso, en particular a un nuevo uso para 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina.

- 5 La rapamicina es un antibiótico macrólido conocido producido por *Streptomyces hygroscopicus*. Los derivados adecuados de la rapamicina incluyen, por ejemplo, los compuestos de fórmula I



en la que

R₁ es CH₃ o alquilo C₃₋₆,

- 10 R₂ es H o -CH₂-CH₂-OH y

X es O, (H,H) o (H,OH)

con la condición de que R₂ sea diferente de H cuando X es = O y R es CH₃.

Los compuestos de fórmula I se divulgan, por ejemplo, en los documentos WO 94/09010, WO 95/16691 o WO 96/41807. Pueden prepararse según se divulga o por analogía a los procedimientos descritos en estas referencias.

- 15 El documento WO 01/51049 describe métodos para aliviar e inhibir trastornos linfoproliferativos que comprenden administrar derivados de rapamicina.

El documento WO 97/47317 describe una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de la clase de somatostatina y un macrólido de rapamicina para uso en la prevención o el tratamiento de la hiperproliferación celular.

- 20 El documento WO 94/09010 describe la producción de derivados O-alquilados de rapamicina y describe sus actividades inmunosupresoras.

Guba et al. (Chirurgisches Forum 2001, Band 30) describe las actividades inmunosupresoras, antiangiogénicas e inhibidoras de tumores de la rapamicina.

- 25 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina (denominada de aquí en adelante como Compuesto A) se divulgó como el Ejemplo 8 en el documento WO 94/09010.

Los compuestos de fórmula I se han descubierto ser útiles, en base a la actividad observada, por ejemplo, la unión a la macrofilina-12 (también conocida como la proteína de unión a FK-506 o FKBP-12), por ejemplo, como se describe en los documentos WO 94/09010, WO 95/16691 o WO 96/41807, como inmunosupresores, por ejemplo, en el tratamiento del rechazo agudo de aloinjertos. Se ha descubierto ahora que los compuestos de fórmula I tienen propiedades antiproliferativas potentes que los hacen útiles para la quimioterapia contra el cáncer, particularmente de tumores sólidos, especialmente tumores sólidos avanzados.

- 30

Todavía existe la necesidad de la armamentística del tratamiento de cáncer de tumores sólidos, especialmente en los casos donde el tratamiento con compuestos anticancerígenos no está asociado a la regresión ni la estabilización de la enfermedad.

De acuerdo con los descubrimientos particulares de la presente invención, se proporciona:

40-0-(2-hidroxiethyl)-rapamicina para su uso en combinación con un inhibidor de la aromatasa para el tratamiento de tumores de mama con receptores hormonales positivos.

5 En ciertas realizaciones, el inhibidor de la aromatasa es atamestano, exemestano, formestano, aminoglutetimida, rogietimida, piridoglutetimida, trilostano, testolactona, ketokonazol, vorozol, fadrozol, anastrozol o letrozol.

También se divulgan:

1.1. Un método para tratar tumores sólidos en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.

10 1.2. Un método para inhibir el crecimiento de tumores sólidos en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.

1.3. Un método para inducir una regresión tumoral, por ejemplo, la reducción de una masa tumoral, en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.

15 1.4. Un método para tratar la invasividad de los tumores sólidos o los síntomas asociados a dicho crecimiento del tumor en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.

1.5. Un método para prevenir la diseminación metastásica de tumores o para prevenir o inhibir el crecimiento de micrometástasis en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.

20 Por "tumores sólidos" se entienden tumores y/o metástasis (dondequiera que se encuentren) distintos de cánceres linfáticos, por ejemplo, tumores en el cerebro y otras partes del sistema nervioso central (por ejemplo, tumores de las meninges, el cerebro, la médula espinal, los nervios craneales y otras partes del sistema nervioso central, por ejemplo, glioblastomas o blastomas de médula); cáncer de cabeza y/o cuello; tumores de mama; tumores del sistema circulatorio (por ejemplo, corazón, mediastino y pleura y otros órganos intratorácicos, tumores vasculares y
25 tejido vascular asociado a tumores); tumores del sistema excretor (por ejemplo, riñón, pelvis renal, uréter, vejiga y otros órganos urinarios no especificados); tumores del tracto gastrointestinal (por ejemplo, esófago, estómago, intestino delgado, colon, porción colorrectal, unión rectosigmoidea, recto, ano y canal anal), tumores que implican el hígado o los conductos biliares intrahepáticos, la vesícula biliar, otras partes no especificadas de las vías biliares, el páncreas y otros órganos digestivos); cabeza y cuello; pocillo oral (labios, lengua, encías, base de la boca, paladar y otras partes de la boca, glándulas parótidas y otras partes de las glándulas salivales, amígdalas, orofaringe, nasofaringe, seno piriforme, hipofaringe y otros sitios en los labios, la pocillo bucal o la faringe); tumores del sistema reproductivo (por ejemplo, vulva, vagina, cuello uterino, cuerpo uterino, útero, ovario y otros sitios asociados a los órganos genitales femeninos, placenta, pene, próstata, testículos y otros sitios asociados a los órganos genitales masculinos); tumores del tracto respiratorio (por ejemplo, pocillo nasal y oído medio, senos paranasales, laringe, tráquea, bronquios y pulmones, por ejemplo, cáncer pulmonar microcítico o cáncer pulmonar no microcítico);
30 tumores del sistema esquelético (por ejemplo, cartílagos óseos y articulares de las extremidades, cartílagos articulares óseos y otros sitios); tumores de la piel (por ejemplo, melanoma cutáneo maligno, cánceres de piel diferentes del melanoma, carcinomas de células basales en la piel, carcinomas en las células escamosas de la piel, mesotelioma, sarcoma de Kaposi); y tumores que implican otros tejidos incluyendo nervios periféricos y nervios del sistema nervioso autónomo, tejido conjuntivo y tejido blando, retroperitoneo y peritoneo, ojos y tejidos asociados, tiroides, glándulas adrenales y otras glándulas endocrinas y estructuras asociadas, neoplasias malignas secundarias y no especificadas de los nodos linfáticos, neoplasias malignas secundarias de los sistemas respiratorio y digestivo y neoplasias malignas secundarias de otros sitios.

45 Cuando anteriormente en el presente documento y posteriormente se menciona un tumor, una enfermedad tumoral, un carcinoma o un cáncer, también está implicada las metástasis en los órganos o los tejidos originales y/o en cualquier otro sitio alternativo o adicional, independientemente de la localización del tumor y/o las metástasis.

Los ejemplos de enfermedades asociadas a la angiogénesis desregulada incluyen sin limitaciones, por ejemplo, enfermedades neoplásicas, por ejemplo, tumores sólidos. Se considera que la angiogénesis es un requisito para aquellos tumores que crecen más allá de un cierto diámetro, por ejemplo, aproximadamente 1-2 mm.

50 Por "cáncer linfático" se entienden, por ejemplo, tumores del sistema sanguíneo y linfático (por ejemplo, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkiniano, linfoma de Burkitt, linfomas relacionados con el SIDA, enfermedades inmunoproliferativas malignas, mieloma múltiple y neoplasmas de células plasmáticas malignas, leucemia linfocítica, leucemia mieloide, leucemia linfocítica aguda o crónica, leucemia monocítica, otras leucemias de un tipo celular especificado, leucemia de un tipo celular no especificado, neoplasmas malignos distintos y sin especificar de tejidos
55 linfocitos, hematopoyéticos y relacionados, por ejemplo linfoma de células grandes difusas, linfoma de células T o linfoma de células T cutáneas.

Por el término "agente quimioterapéutico" se entiende especialmente cualquier agente quimioterapéutico distinto de la rapamicina o un derivado de la misma. Incluye pero no se limita a,

- i. un inhibidor de la aromatasas,
- 5 ii. un antiestrógeno, un anti-andrógeno (especialmente en el caso de cáncer de próstata) o un agonista de la gonadorelina,
- iii. un inhibidor de la topoisomerasa I o un inhibidor de la topoisomerasa II,
- iv. un agente activo de microtúbulos, un agente alquilante, un antimetabolito antineoplásico o un compuesto de platino,
- 10 v. un compuesto direccionado/que disminuye la actividad de una proteína o lípido quinasa o una actividad de proteína o lípido fosfatasa, un compuesto anti-angiogénico adicional o un compuesto que induce procesos de diferenciación celular,
- vi. un receptor de bradiquinina 1 o un antagonista de angiotensina II,
- vii un inhibidor de la ciclooxigenasa, un bisfosfonato, un inhibidor de la histona desacetilasa, un inhibidor de la heparanasa (previene la degradación del sulfato de heparano), por ejemplo PI-88, un modificador de la respuesta biológica, preferiblemente una linfoquina o interferones, por ejemplo interferón γ , un inhibidor de la ubiquitinación o un inhibidor que bloquea las vías antiapoptóticas,
- 15 viii. un inhibidor de las isoformas oncogénicas Ras, por ejemplo H-Ras, K-Ras o N-Ras, o un inhibidor de la farnesil transferasa, por ejemplo L-744,832 o DK8G557,
- ix un inhibidor de la telomerasa, por ejemplo telomestatina
- 20 X. un inhibidor de la proteasa, un inhibidor de metaloproteínasa de matriz, un inhibidor de metionina aminopeptidasa, por ejemplo bengamida o un derivado de la misma, o un inhibidor de proteosoma, por ejemplo PS-341.

El término "inhibidor de la aromatasas", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que inhibe la producción de estrógeno, es decir, la conversión de los sustratos androstenediona y testosterona en estrona y estradiol, respectivamente. El término incluye, pero no se limita a esteroides, especialmente atamestano, exemestano y formestano y, en particular, no esteroides, especialmente aminoglutetimida, rogletimida, piridoglutetimida, trilostan, testolactona, ketokonazol, vorozole, fadrozol, anastrozol y letrozol. El exemestano se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca registrada AROMASINTM. El formestano se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca registrada LENTARONTM. El fadrozol se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca registrada AFEMATM. El anastrozol se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca registrada ARIMIDEXTM. El letrozol se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo bajo la marca registrada FEMARATM o FEMARTM. La aminoglutetimida se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo bajo la marca registrada ORIMETENTM. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterapéutico que es un inhibidor de la aromatasas es particularmente útil para el tratamiento de tumores con receptores hormonales positivos, por ejemplo tumores de mama.

La divulgación también comprende las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, los racematos, los diastereoisómeros, los enantiómeros, los tautómeros correspondientes así como las modificaciones cristalinas, hidratos y polimorfos, que se divulgan en esos documentos. Los compuestos usados como principios activos en las combinaciones de la invención pueden prepararse y administrarse como se describe en los documentos citados, respectivamente. También dentro del alcance de esta invención está la combinación de más de dos ingredientes activos separados como se expuso anteriormente, es decir, una combinación farmacéutica dentro del alcance de esta invención podría incluir tres ingredientes activos o más. Además, tanto el primer agente como el co-agente no son el ingrediente idéntico.

La utilidad de los compuestos de fórmula I en el tratamiento de tumores sólidos como se ha especificado anteriormente en el presente documento, demostrarse con métodos de ensayos en animales así como clínicos, por ejemplo, de acuerdo con los métodos descritos a continuación en el presente documento.

A. *In vitro*

50 A.1. Actividad antiproliferativa en combinación con otros agentes

Una línea celular, por ejemplo la línea A549 resistente al Compuesto A (IC₅₀ en un intervalo nM bajo) frente a las líneas comparativas KB-31 y HCT116 resistentes al Compuesto A (IC₅₀ en el intervalo μ M), se añade en placas de 96 pocillos (1500 células/pocillo en 100 μ l de medio) y se incuba durante 24 h. Posteriormente, se prepara una serie

de diluciones en dos veces de cada compuesto (el Compuesto de fórmula I o un agente quimioterapéutico conocido) en tubos separados (empezando en 8 x la IC₅₀ de cada compuesto), individualmente o en combinaciones en pares, y las diluciones se añaden a los pocillos. Las células se re-incuban después durante 3 días. Se realiza una tinción con azul de metileno el día 4 y se determina la cantidad de tinte unido (proporcional al número de células sobrevivientes que se unen al tinte). Las IC₅₀ se determinan posteriormente usando el programa Calcsyn, que proporciona una medida de la interacción, es decir el denominado índice de combinación no exclusiva (CI), donde: CI ~ 1 = la interacción es casi aditiva; 0,85 - 0,9 = sinergia leve; < 0,85 = sinergia. En este ensayo, los compuestos de fórmula I muestran una actividad antiproliferativa interesante en combinación con otro agente quimioterapéutico. Por ejemplo, se obtienen los siguientes valores de CI con una combinación del Compuesto A y cisplatino, paclitaxel, gemcitabina o doxorubicina, mostrando efectos sinérgicos.

	CI			
Línea celular	Cisplatino	Paclitaxel	Gemcitabina	Doxorrubicina
KB-31	0,74	0,9	0,79	0,7
A549	0,47	0,74	0,76	0,64
HCT116	0,47	0,3	0,9	0,52

Adicionalmente, en este ensayo, el Compuesto A potencia la pérdida de viabilidad de las células A549 así como su muerte cuando se usa en combinación con gemcitabina.

A.2. Actividad antiangiogénica

El ensayo *in vitro* de la actividad antiproliferativa de rapamicina o un derivado de la misma, por ejemplo Compuesto A, contra células endoteliales de venas umbilicales humanas (HUVEC) demuestra valores IC₅₀ de 120 ± 22 pM y 841 ± 396 y >10000 pM para la proliferación estimulada por VEGF y bFGF y FBS, respectivamente. Adicionalmente, no se observan efectos significativos del Compuesto A en una proliferación de fibroblastos dérmicos humanos normales (NHDF) estimulados con el bFGF en el mismo intervalo de concentración. Estos resultados son indicativos de que el Compuesto A inhibe la proliferación de las HUVEC, siendo particularmente potente sobre la proliferación inducida por el VEGF, siendo VEGF un factor proangiogénico clave.

B. *In vivo*

En los siguientes ensayos, la actividad antitumoral se expresa como el % de T/C (aumento medio en los volúmenes de los tumores en los animales tratados dividido por el aumento medio en los volúmenes de los tumores en los animales control y multiplicado por 100) y el % de regresión (el volumen tumoral menos el volumen tumoral inicial dividido por el volumen tumoral inicial y multiplicado por 100).

B.1. Actividad en xenoinjertos de tumores de pulmón humano A549

Se trasplantan subcutáneamente fragmentos de tumores A549 (aproximadamente 25 mg; derivados de la línea celular CCL 185, ATCC, Rockville MD, EE.UU.) en el flanco izquierdo de ratones desnudos BALB/c. El tratamiento se inicia el día 7 o 12 después del trasplante de los tumores. El compuesto que se desea probar se administra por vía oral una vez al día desde el día 7/12 hasta el día 38/55, respectivamente. En este ensayo, cuando se administran a una dosis diaria que varía de 0,1 mg/kg a 2,5 mg/kg, los compuestos de fórmula I exhiben una inhibición dependiente de la dosis del crecimiento tumoral; por ejemplo, en un experimento representativo el Compuesto A cuando se administra a una dosis de 2,5 mg/kg da como resultado regresiones persistentes (41 %); una dosis de 0,5 mg/kg da como resultado regresiones transitorias (38 % el día 17), con un T/C final del 16 %, y una dosis de 0,1 mg/kg ralentiza el crecimiento tumoral dando como resultado un T/C final del 43 % (el T/C para los animales control es el 100 %).

B.2. Actividad en xenoinjertos de tumores epidermoides humanos KB-31

Se trasplantan subcutáneamente fragmentos de tumores KB-31 (aproximadamente 25 mg, derivados de las líneas celulares obtenidas en Roswell Park Memorial Institute, Buffalo, NY, EE.UU.) en el flanco izquierdo de ratones desnudos BALB/c. El tratamiento se inicia el día 7 o el día 10 después del trasplante de los tumores. El compuesto a probarse se administra por vía oral una vez al día, desde el día 7/10 hasta el día 25/35, respectivamente. La actividad antitumoral se expresa como el % de T/C, según se indicó con anterioridad. En este ensayo, cuando se administran a una dosis diaria de 0,5 mg/kg a 2,5 mg/kg, los compuestos de fórmula I inhiben el crecimiento tumoral; por ejemplo, en un experimento representativo el Compuesto A cuando se administra a una dosis de 2,5 mg/kg/día da como resultado un valor T/C final del 25 % (el T/C para los animales control es del 100 %).

B.3. Actividad en tumores pancreáticos de rata CA20948

Se establecen tumores en ratas Lewis macho inyectando por inyección subcutánea una suspensión de células tumorales CA20948 derivada de ratas donantes en el flanco izquierdo. El tratamiento se inicia el día 4 después de la inoculación. El compuesto a probarse se administra por vía oral una vez al día (6 días a la semana) desde el día 4 hasta el día 9-15 después de la inoculación. La actividad antitumoral se expresa como el % de T/C, según se indicó con anterioridad. En este ensayo, cuando se administran a una dosis diaria de 0,5 mg/kg a 2,5 mg/kg, los compuestos de fórmula I inhiben el crecimiento tumoral; por ejemplo, en un experimento representativo el Compuesto A cuando se administra por vía oral a una dosis diaria de 2,5 mg/kg da como resultado un valor de T/C final del 23 %. En el mismo experimento, la administración intermitente del Compuesto A, 5 mg/kg dos veces por semana, da como resultado un valor de T/C final del 32 %. El Compuesto A disminuye significativa y consistentemente en estos ensayos la velocidad de crecimiento de los tumores pancreáticos CA20948 en comparación con los controles con vehículo (el T/C para los animales control se define como el 100 %).

Los Compuestos de fórmula I, por ejemplo el Compuesto A, se han probado en otros modelos de tumores de acuerdo con el procedimiento como se divulga anteriormente. Por ejemplo, una dosificación diaria de 2,5 mg/kg o 5 mg/kg del Compuesto A produce un T/C final del 18 % y del 9 % cuando se administra al modelo de tumor de pulmón humano NCI H-596 y al modelo de tumor de melanoma humano MEXF 989, respectivamente; 5 mg/kg produce un T/C final del 20 % (tumores primarios) y del 36 % (metástasis en los nodos linfáticos cervicales) cuando se administra al modelo de tumor de melanoma de ratón B16/BL6 ortotópico y del 24 % cuando se administra al modelo de tumor pancreático humano AR42J; 2,5 mg/kg produce un T/C final del 28 % cuando se administra en un modelo de tumor epidermoide humano KB-8511 resistentes a múltiples fármacos (MDR). También se obtienen buenas respuestas antitumorales cuando los compuestos de fórmula I, por ejemplo el Compuesto A, se administran intermitentemente, por ejemplo, 2 días consecutivos por semana o dos veces a la semana, en ratones trasplantados con tumores pancreáticos humanos AR42J.

B.4. Combinación con doxorrubicina

Se tratan ratones trasplantados con tumores epidermoides KB-31 durante 21 días con doxorrubicina a una dosis de 5 mg/kg intravenosa semanal, un compuesto de fórmula I, por ejemplo el Compuesto A, a una dosis de 2,5 mg/kg por vía oral diaria o una combinación de ambos. En lo sucesivo se continúa el tratamiento con compuesto de fórmula I solo en el grupo de combinación para determinar si el compuesto de fórmula I puede suprimir el crecimiento de los tumores que responden a los agentes convencionales. La actividad antitumoral se expresa como el % de T/C o el % de regresiones, como se indica anteriormente. Por ejemplo, la combinación del Compuesto A y doxorrubicina produce un efecto antitumoral mayor (regresiones del 74 %) en comparación a cualquier agente solo (Compuesto A, T/C del 32 %; regresiones del 44 % con doxorrubicina). No ocurre la exacerbación de las pérdidas de peso corporal causadas por la doxorrubicina cuando se añade el tratamiento de Compuesto A. Un tratamiento continuo con el Compuesto A en el grupo de combinación, después de cesar la doxorrubicina, inhibe la excrecencia tumoral de tal manera que el volumen de los tumores del grupo de monoterapia con doxorrubicina es significativamente más grande que aquel en el grupo de combinación. Además, la combinación parece producir una mayor tasa de curación (8/8 tumores) 14 días después del final del tratamiento que la doxorrubicina sola (3/8 tumores).

B.5. Combinación con cisplatino

Se tratan ratones trasplantados con tumores de pulmón humanos NCI H-596 durante 21 días con cisplatino a una dosis de 2,5 mg/kg intravenosa una vez a la semana, un compuesto de fórmula I, por ejemplo el Compuesto A a una dosis de 2,5 mg/kg por vía oral una vez al día o una combinación de ambos. La actividad antitumoral se expresa como el % de T/C o el % de regresiones como se indica anteriormente. Una combinación del Compuesto A y cisplatino produce un efecto antitumoral mayor (regresiones del 5 %) en comparación a cualquier agente solo (Compuesto A, T/C del 26 %; cisplatino, T/C del 26 %). La combinación no dio lugar a un empeoramiento en la tolerabilidad.

B.6. Actividad antiangiogénica

Se inyectan células B16/BL6 (5×10^4) intradérmicamente en la oreja de ratones C57BL/6. Siete días después se inicia el tratamiento con rapamicina o un derivado de la misma, por ejemplo el Compuesto A o el vehículo. Los tumores primarios y los nodos linfáticos cervicales se recolectan dos semanas después del inicio del tratamiento diario para la medición de la densidad de los vasos. El endotelio de los vasos perfundidos en los tumores se visualiza usando un tinte de tinción nuclear (Hoechst 33342, 20 mg/kg), que se inyecta por vía intravenosa poco antes de sacrificar los ratones. Los tumores y las metástasis se congelan instantáneamente y las secciones se examinan con un microscopio óptico equipado con una fuente epifluorescente. Las células endoteliales marcadas con fluorescencia H33342 se usan para medir el número y el tamaño de los vasos en toda la sección tumoral. Los vasos se asignan en grupos con un tamaño en un intervalo de 10 μm . La distribución del tamaño de los vasos se evalúa usando un análisis de frecuencia en histograma. A una dosis de 5 mg/kg por vía oral, la rapamicina o un derivado de la misma reduce la densidad de los vasos tanto en los tumores primarios (por ejemplo, T/C del 50 % para el Compuesto A) como en las metástasis (por ejemplo, T/C del 40 % para el Compuesto A) en comparación con los controles. La rapamicina o un derivado de la misma, por ejemplo el Compuesto A, también cambia la distribución del tamaño de los vasos en las metástasis.

B.7. Combinación con un agente antiangiogénico

Se inyectan por vía intradérmica células B16/BL6 (5×10^4) en la oreja de ratones C57BL/66. Siete días después se inicia el tratamiento con rapamicina o un derivado de la misma, por ejemplo el Compuesto A, un inhibidor de la tirosina quinasa del receptor del VEGF, por ejemplo, 1-(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)ftalazina o una sal de la misma, por ejemplo, el succinato, o una combinación de ambos, y se monitorizan los efectos sobre el crecimiento y el peso de los tumores primarios y las metástasis en los nodos linfáticos cervicales, respectivamente. La administración diaria del agente antiangiogénico (100 mg/kg por vía oral) o de rapamicina o un derivado de la misma, por ejemplo el compuesto A, (1 mg/kg por vía oral) solo, disminuye el tamaño de los tumores primarios (T/C final: 65 % y 74 %, respectivamente), mientras que la combinación de los dos agentes es sinérgica (T/C: 12 %). La rapamicina o un derivado de la misma, por ejemplo el Compuesto A y el tratamiento con el agente antiangiogénico solo reducen el peso de los ganglios linfáticos cervicales reduce el peso de los nodos linfáticos cervicales (relacionados con las metástasis regionales) (T/C: 75 % y 34 %, respectivamente), y la combinación disminuye además el peso de los nodos linfáticos (T/C: 13 %). Los tratamientos promueven significativamente las ganancias en el peso corporal en comparación con los controles. Para los tumores primarios, un análisis de la interacción posible muestra sinergia con el Compuesto A y el agente antiangiogénico como agente antiangiogénico/controles = 0,66; Compuesto A/controles = 0,77; Compuesto A y agente antiangiogénico/controles = 0,135. Debido a que Compuesto A y el agente antiangiogénico/controles < Compuesto A/controles x agente antiangiogénico/controles (0,51), esto se define como sinergia. Para las metástasis, los análisis también muestran sinergia con el Compuesto A y el agente antiangiogénico como agente antiangiogénico/controles = 0,337; Compuesto A/controles = 0,75; Compuesto A y agente antiangiogénico/controles = 0,122. Debido a que Compuesto A y el agente antiangiogénico/controles < Compuesto A/controles x agente antiangiogénico/controles (0,252), esto también se define como sinergia (Clark, Breast Cancer Research Treatment, 1997; 46:255).

C. Prueba clínica

C.1 Investigación del beneficio clínico de un compuesto de fórmula I, por ejemplo el Compuesto A como monoterapia en tumores sólidos

Objeto del estudio: Identificar la dosis óptima de dicho compuesto, administrada oralmente una vez a la semana, en un estudio con una dosis escalada y la efectividad de la dosificación óptima en tumores sólidos.

El estudio se divide en 2 partes:

Parte 1:

Objeto principal. Identificar la dosis óptima de un compuesto de fórmula I, por ejemplo el compuesto A, administrada por vía oral una vez a la semana, asumiendo que debe ser la dosis mínima asociada a la inhibición prolongada de mTOR y los niveles en sangre de dicho compuesto al menos equivalentes a aquellos para lograr un efecto antitumoral en niveles preclínicos *in vivo*.

Objeto secundario. Evaluar la seguridad de dicho compuesto cuando se da solo a pacientes con cáncer y evaluar los cambios en la actividad metabólica tumoral.

Diseño; Grupos sucesivos de 4 pacientes con tumores sólidos malignos avanzados, refractarios o resistentes a terapias convencionales para recibir un compuesto de fórmula I, por ejemplo el Compuesto A, cada 7 días en diversas dosis (grupo 1 recibe 5 mg; grupo 2 recibe 10 mg, grupo 3 recibe 20 mg) durante 4 semanas. En la semana 4, se establece el perfil farmacocinético y el perfil de inhibición de mTOR como se refleja por la inhibición de la quinasa p70s6 en los linfocitos periféricos. Llevar a cabo formación de imagen por tomografía por emisión de positrones (FDG-PET) comparativa con 18-flúor-odeoxiglucosa (FDG) (antes de la 1ª dosis, después de la 3ª dosis) para explorar los cambios en el metabolismo tumoral.

Criterios principales de selección de los pacientes: Adultos con tumores sólidos en una etapa avanzada (III-V), resistentes o refractarios a terapias convencionales. Debe haber al menos una lesión tumoral medible (>20 mm en una dimensión).

Variables principales para evaluación: Seguridad (efectos adversos), bioquímica y hematología en suero convencionales, niveles en sangre del compuesto a probarse, actividad quinasa p70-s6 en los linfocitos, cambios en la captación de glucosa tumoral por FDG-PET.

Parte 2:

Objeto Primario. Explorar la efectividad de un compuesto de fórmula I, por ejemplo el Compuesto A, en pacientes con tumores sólidos avanzados cuando se da una vez a la semana a la dosis óptima, como se identifica en la Parte 1 como se muestra por la respuesta del tumor.

Objeto secundario. Evaluar la seguridad de dicho compuesto a esta dosificación.

Diseño. 20 pacientes con tumores sólidos en progreso en una etapa avanzada, resistentes o refractarios a terapias

convencionales, para recibir dicho compuesto a la dosificación recomendada como resultado de la Parte 1. El estado clínico general del paciente se investiga semanalmente mediante un examen físico y de laboratorio. Los cambios en la carga tumoral se evalúan cada 2 meses mediante un examen radiológico. Inicialmente los pacientes reciben el tratamiento durante 2 meses. En lo sucesivo, se mantienen en tratamiento mientras su enfermedad no avance y el fármaco se tolere satisfactoriamente.

Variables principales para evaluación. Seguridad (efectos adversos), bioquímica y hematología en suero convencionales, dimensiones del tumor por tomografía computarizada (CT) o formación de imagen por resonancia magnética (MRI).

C.2. Tratamiento combinado

Los estudios clínicos apropiados son, por ejemplo, estudios con dosis crecientes, con marcas abiertas, no aleatorios, en pacientes con tumores sólidos avanzados. Dichos estudios prueban en particular la sinergia de los principios activos de la combinación de la invención. Los efectos beneficiosos sobre las enfermedades proliferativas pueden determinarse directamente a través de los resultados de estos estudios o por cambios en el diseño del estudio que se conocen en sí mismos para una persona experta en la materia. En particular, dichos estudios son adecuados para comparar los efectos de una monoterapia usando los principios activos y una combinación de la invención. Preferiblemente, se escala la dosis del agente a) hasta que se alcanza la Dosis Máxima Tolerada y se administra el co-agente b) con una dosis fija. Como alternativa, se administra el agente a) en una dosis fija y se aumenta la dosis de co-agente b). Cada paciente recibe una dosis del agente a) diaria o bien intermitente. La efectividad del tratamiento puede determinarse en dichos estudios, por ejemplo, después de 12, 18 o 24 semanas por evaluación radiológica de los tumores cada 6 semanas.

Alternativamente, puede usarse un estudio doble ciego, controlado con un placebo, para demostrar los beneficios de una combinación de la invención mencionada en el presente documento.

Un intervalo de dosificación diario preferido es de aproximadamente 0,1 a 25 mg como una dosis única o en dosis divididas. Las dosificaciones diarias adecuadas para pacientes están en el orden de por ejemplo 0,1 a 25 mg por vía oral. El Compuesto A puede administrarse por cualquier vía convencional, en particular enteralmente, por ejemplo, oralmente, por ejemplo, en forma de comprimidos, cápsulas, soluciones para beber, nasal, pulmonarmente (por inhalación) o parenteralmente, por ejemplo en forma de soluciones inyectables o suspensiones. Las formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración oral comprenden de aproximadamente 0,05 a 12,5 mg, habitualmente 0,25 a 10 mg de Compuesto A, junto con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables del mismo.

La combinación de la invención también se puede aplicar en combinación con intervención quirúrgica, hipertermia de cuerpo completo leve prolongada y/o terapia de irradiación.

La administración de una combinación farmacéutica de la invención no solamente da como resultado un efecto beneficioso, por ejemplo, un efecto terapéutico sinérgico, por ejemplo, con respecto a ralentizar, detener o revertir la formación de neoplasias o una respuesta tumoral más prolongada, sino también efectos beneficiosos sorprendentes adicionales, por ejemplo, menos efectos secundarios, una calidad de vida mejorada o una mortalidad y morbilidad disminuidas, en comparación con una monoterapia donde solamente se aplica uno de los principios farmacéuticamente activos usados en la combinación de la invención, en particular en el tratamiento de un tumor que es refractario a otros agentes quimioterapéuticos conocidos como agentes anticancerígenos. En particular, cuando se aplica en combinación con el primer agente (a), se observa una mayor captación del co-agente (b) en el tejido tumoral y las células tumorales.

Un beneficio adicional es que se pueden usar dosis más bajas de los ingredientes activos de la combinación de la invención, por ejemplo, que las dosificaciones no solo necesitan ser a menudo más pequeñas sino que también se aplican con menos frecuencia, o se pueden usar con el fin de disminuir la incidencia de efectos colaterales, mientras se controla el crecimiento de la formación de neoplasma. Esto está de acuerdo con los deseos y requisitos de los pacientes que se van a tratar.

Los términos "coadministración" o "administración combinada" o similares, tal como se utilizan en el presente documento, pretenden abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo paciente, y pretenden incluir regímenes de tratamiento en los que los agentes no son necesariamente administrados por la misma vía de administración o al mismo tiempo.

Un objetivo de esta invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprenda una cantidad, que sea conjuntamente terapéuticamente efectiva contra una enfermedad maligna proliferativa que comprenda una combinación de la invención. En esta composición, el primer agente a) y el coagente (b) pueden administrarse juntos, uno después del otro o por separado en una forma de dosificación unitaria combinada o en dos formas de dosificación unitaria separadas. La forma de dosificación unitaria también puede ser una combinación fija.

Las composiciones farmacéuticas para la administración separada del primer agente a) y el coagente b) y para la administración en una combinación fija, es decir, una única composición galénica que comprende al menos dos

parejas de combinación a) y b), de acuerdo con la invención puede prepararse de una manera conocida per se y son aquellas adecuadas para administración enteral, tal como oral o rectal, y parenteral a mamíferos (animales de sangre caliente), incluidos humanos, que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un compañero de combinación farmacológicamente activo solo, por ejemplo como se indicó anteriormente, o en combinación con uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, especialmente adecuados para aplicación enteral o parenteral.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas contienen, por ejemplo, de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 99,9 %, preferentemente de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 60 % de los principios activos. Las preparaciones farmacéuticas para la terapia de combinación para administración enteral o parenteral son, por ejemplo, aquellas en formas de dosificación unitarias, tales como comprimidos recubiertos con azúcar, comprimidos, cápsulas o supositorios o ampollas. Si no se indica de otra manera, estas se preparan de una manera conocida en sí misma, por ejemplo por medio de procesos convencionales de mezcla, granulación, recubrimiento con azúcar, disolución o liofilización. Se apreciará que el contenido unitario de un compañero de combinación en una dosis individual de cada forma de dosificación no constituye una cantidad eficaz por sí solo, debido a que la cantidad eficaz necesaria puede alcanzarse mediante la administración de una pluralidad de unidades de dosificación.

En particular, una cantidad terapéuticamente eficaz de cada uno de los compañeros de combinación de la invención puede administrarse simultánea o consecutivamente, en cualquier orden, y los componentes pueden administrarse por separado o como una combinación fija. Por ejemplo, el método para retardar el avance o el tratamiento de una enfermedad maligna proliferativa de acuerdo con la invención puede comprender (i) administrar el primer agente a) en una forma libre o como una sal farmacéuticamente aceptable y (ii) administrar el co-agente b) en una forma libre o como una sal farmacéuticamente aceptable, simultánea o consecutivamente en cualquier orden, en cantidades conjuntas terapéuticamente eficaces, preferentemente en cantidades sinérgicamente eficaces, por ejemplo, en dosis diarias o intermitentes correspondientes a las cantidades descritas en el presente documento. Los compañeros de combinación individuales de la combinación de la invención pueden administrarse por separado, en momentos diferentes durante la terapia, o concurrentemente, en formas de combinación divididas o individuales. Adicionalmente, el término administración también abarca el uso de un profármaco de un compañero de combinación que se convierte *in vivo* en el compañero de combinación como tal. Por lo tanto, debe entenderse que la presente invención abarca todos estos regímenes de tratamiento simultáneo o alterno y el término "administrar" se debe interpretar en consecuencia.

La dosificación efectiva de cada uno de los compañeros de combinación empleados en la combinación de la invención puede variar dependiendo del compuesto particular o la composición farmacéutica empleada, el modo de administración, la afección a tratarse, la gravedad de la afección a tratarse. De este modo, el régimen de dosificación de la combinación de la invención se selecciona de acuerdo con una diversidad de diversos factores incluyendo la vía de administración y la función renal y hepática del paciente. Un médico, un clínico o un veterinario capacitados pueden determinar fácilmente y prescribir la cantidad eficaz de los principios activos individuales necesaria para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección. La precisión óptima para lograr una concentración de los principios activos dentro del intervalo que produzca efectividad sin toxicidad requiere un régimen basado en la cinética de la disponibilidad de los principios activos en los sitios diana.

Por supuesto, las dosificaciones diarias para el primer agente a) varían dependiendo de una diversidad de factores, por ejemplo, el compuesto elegido, la afección particular a tratarse y el efecto deseado. En general, sin embargo, se logran resultados satisfactorios con la administración de rapamicina o un derivado de la misma a tasas de dosificación diarias del orden de aproximadamente 0,1 a 25 mg como dosis únicas o en dosis divididas. La rapamicina o un derivado de la misma, por ejemplo, un compuesto de fórmula I, pueden administrarse por cualquier vía convencional, en particular por vía enteral, por ejemplo, oralmente, en forma de comprimidos, cápsulas o soluciones bebibles, o por vía parenteral, por ejemplo, en forma de soluciones o suspensiones inyectables. Las formas de dosificación individuales apropiadas para una administración oral comprenden de aproximadamente 0,05 a 10 mg de principio activo, por ejemplo, el Compuesto A, junto con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables para los mismos.

El fadrozol se puede administrar por vía oral a un humano en un intervalo de dosificación que varía de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 mg/día, preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 2,5 mg/día. El exemestano se puede administrar por vía oral a un humano en un intervalo de dosificación que varía de aproximadamente 5 a aproximadamente 200 mg/día, preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 mg/día, o parenteralmente de aproximadamente 50 a 500 mg/día, preferiblemente de aproximadamente 100 a aproximadamente 250 mg/día. Si el fármaco debe administrarse en una composición farmacéutica separada, puede administrarse en la forma divulgada en el documento GB 2.177.700. El formestano se puede administrar por vía parenteral a un humano en un intervalo de dosificación que varía de aproximadamente 100 a 500 mg/día, preferiblemente de aproximadamente 250 a aproximadamente 300 mg/día. El anastrozol se puede administrar de forma oral a un humano en un intervalo de dosificación que varía de aproximadamente 0,25 a 20 mg/día, preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2,5 mg/día. La aminoglutemida se puede administrar a un humano en un intervalo de dosificación que varía de aproximadamente 200 a 500 mg/día.

La rapamicina o derivados de la misma son bien tolerados en las dosificaciones requeridas para su uso de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, la NTEL para el Compuesto A en un estudio de la toxicidad de 4 semanas es de 0,5 mg/kg/día en ratas y 1,5 mg/kg/día en monos.

REIVINDICACIONES

1. 40-O-(2-hidroxietil) -rapamicina para uso en combinación con un inhibidor de la aromatasa para el tratamiento de tumores de mama con receptores hormonales positivos.
 2. 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el inhibidor de la aromatasa es atamestano, exemestano, formestano, aminoglutetimida, roglethimida, piridoglutetimida, trilostano, testolactona, ketokonazol, vorozol, fadrozol, anastrozol o letrozol.
- 5