

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 734 081**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/5377** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61K 31/437** (2006.01)

**G01N 33/574** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.11.2015 PCT/US2015/059502**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.05.2016 WO16073871**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.11.2015 E 15795317 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2019 EP 3215157**

54 Título: **Apilimod para el uso en el tratamiento de melanoma**

30 Prioridad:

**07.11.2014 US 201462077127 P**

**12.02.2015 US 201562115228 P**

**23.02.2015 US 201562119540 P**

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

**04.12.2019**

73 Titular/es:

**AI THERAPEUTICS, INC. (100.0%)**

**530 Old Whitfield Street**

**Guilford, CT 06437, US**

72 Inventor/es:

**BEEHARRY, NEIL;**

**GAYLE, SOPHIA;**

**LANDRETTE, SEAN;**

**BECKETT, PAUL;**

**CONRAD, CHRIS;**

**XU, TIAN;**

**ROTHBERG, JONATHAN M. y**

**LICHENSTEIN, HENRI**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 734 081 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**

Apilimod para el uso en el tratamiento de melanoma

Aplicaciones relacionadas

5 Esta solicitud reivindica prioridad a la solicitud de patente U.S. Ser. No. 62/077,127, presentada el 7 de noviembre de 2014, solicitud de patente U.S. Ser. No. 62/115,228, presentada el 12 de febrero de 2015 y la solicitud de patente U.S. Ser. No. 62/119,540, presentada el 23 de febrero de 2015.

Campo de la invención

La presente invención se relaciona con composiciones que comprenden apilimod para uso en el tratamiento de melanoma.

10 Antecedentes de la invención

15 El melanoma es una forma grave de cáncer de piel que se desarrolla en las células (melanocitos) que dan color a nuestra piel. El melanoma es el sexto cáncer más común en los Estados Unidos, y el número de casos de melanoma diagnosticados anualmente está aumentando más rápido que para cualquier otro tipo de cáncer. Se calcula que se diagnosticarán 73.870 nuevos casos de melanoma invasivo en los Estados Unidos en el 2015. Se estima que 9.940 personas morirán de melanoma en 2015. El melanoma representa menos del dos por ciento de los casos de cáncer de piel, pero la gran mayoría de las muertes por cáncer de piel. 1 de cada 50 hombres y mujeres serán diagnosticados con melanoma de la piel durante su vida.

El documento WO 2006/128129 divulga el uso de apilimod para tratar el cáncer.

20 J.L. Langowski et al. (Nature, vol. 442 (7101), 2006, páginas 461-465) reporta que la IL-23 promueve la incidencia y el crecimiento de tumores.

25 El melanoma en etapa temprana a menudo se puede extirpar completamente mediante cirugía del área afectada. Pero una vez que ha hecho metástasis, es mucho más difícil de tratar. En la mayoría de los casos, no es posible eliminar o curar completamente el cáncer una vez que haya hecho metástasis. Dependiendo de dónde y cuán grandes sean las metástasis, el tratamiento puede incluir quimioterapia, cirugía, terapia génica, inmunoterapia, radioterapia y combinaciones de éstas. Sigue habiendo una necesidad de opciones de tratamiento más eficaces y menos tóxicas para el melanoma.

Sumario de la invención

30 El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia.

La presente invención se basa en parte en el sorprendente descubrimiento de que apilimod es un agente altamente citotóxico en células de melanoma, especialmente células de melanoma que son resistentes a otras terapias y además en combinación con ciertos agentes de quimioterapia.

35 En un aspecto, la presente divulgación proporciona una composición para tratar el melanoma en un sujeto que lo necesita, comprendiendo la composición una cantidad terapéuticamente eficaz de apilimod, o una sal, solvato, clatrato, hidrato, polimorfo, farmacéuticamente aceptables del mismo. En una realización, el apilimod es dimesilato de apilimod. En realizaciones, la composición es una forma de dosificación oral o una forma de dosificación adecuada para administración intravenosa. En realizaciones, el melanoma es un melanoma en estadio III o IV, un melanoma que es refractario o un melanoma que es maligno o metastásico.

40 En realizaciones, la composición comprende además al menos un agente activo adicional. En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un agente terapéutico o un agente no terapéutico, o una combinación de estos. En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un agente terapéutico. En realizaciones, el agente terapéutico se selecciona de un inhibidor de la proteína quinasa, un agente antineoplásico a base de platino, un inhibidor de topoisomerasa, un inhibidor metabólico de nucleósidos, un agente alquilante, un agente intercalante, un agente enlazador de tubulina, inhibidor de la vía PD-1/PDL-1, y combinaciones de estos. En las realizaciones, el agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en vemurafenib, dacarbazina, temozolomida, Nab-paclitaxel, carmustina, cisplatino, carboplatino, vinblastina, ipilimumab, pembrolizumab (Keytruda™), Interleucina-2 (IL-2, Proleukin™), pembrolizumab (Keytruda™), dabrafenib (Tafinlar™), vemurafenib (Zelboraf™), trametinib (Mekinist™), dasatinib (Sprycel™), imatinib (Gleevec™) y nilotinib (Tasigna™) y sus combinaciones. En realizaciones, el agente terapéutico es vemurafenib. En realizaciones, el agente terapéutico es un inhibidor de la vía PD-1/PDL-1. En realizaciones, el inhibidor de la vía PD-1/PDL-1 se selecciona de pembrolizumab (Keytruda), avelumab, atezolizumab (MPDL3280A), nivolumab (BMS-936558), pidilizumab (MK-3475), MSB0010718C y MEDI4736.

En realizaciones, la composición comprende además un agente no terapéutico seleccionado para mejorar uno o más efectos secundarios del apilimod. En realizaciones, el agente no terapéutico se selecciona del grupo que consiste en ondansetrón, granisetron, dolasetron y palonosetrón. En realizaciones, el agente no terapéutico se selecciona del grupo que consiste en pindolol y risperidona.

5 En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método para tratar melanoma en un sujeto que lo necesite, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende apilimod, en donde el apilimod es el propio apilimod (es decir, la base libre de apilimod) o una de sus sales, solvatos, clatratos, hidratos y polimorfos farmacéuticamente aceptables. En una realización, el apilimod es dimesilato de apilimod.

10 En realizaciones, el método comprende además administrar al menos un agente activo adicional al sujeto. El al menos un agente activo adicional puede ser un agente terapéutico o un agente no terapéutico, o una combinación de estos. El al menos un agente activo adicional puede administrarse en una única forma de dosificación con el apilimod, o en una forma de dosificación separada.

15 En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un inhibidor de tirosina quinasa. En realizaciones, el inhibidor de tirosina quinasa es un inhibidor de la enzima B-Raf. En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es vemurafenib. En una realización, el método comprende administrar apilimod y vemurafenib juntos en un régimen de terapia de combinación para el tratamiento de melanoma. En una realización, el melanoma es un melanoma de estadio tardío. En una realización, el melanoma de estadio tardío es resistente a vemurafenib por sí solo.

20 En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste en un inhibidor de la proteína quinasa, un agente antineoplásico a base de platino, un inhibidor de topoisomerasa, un inhibidor metabólico de nucleósidos, un agente alquilante, un agente intercalante, un agente enlazador de tubulina, un inhibidor de BRAF y combinaciones de estos. En realizaciones, el agente terapéutico es un inhibidor de la proteína quinasa, un agente alquilante, un agente intercalante, un agente enlazador de tubulina y combinaciones de estos. En realizaciones, el agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste en vemurafenib, ibrutinib, rituximab, doxorubicina, vincristina, velcade y everolimus y combinaciones de estos. En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un agente terapéutico seleccionado de vemurafenib, dacarbazina, temozolomida, Nab-paclitaxel, carmustina, cisplatino, carboplatino, vinblastina, ipilimumab, pembrolizumab (Keytruda™), interleucina-2 (IL-2, Proleukin™), pembrolizumab (Keytruda™), dabrafenib (Tafinlar™), vemurafenib (Zelboraf™), trametinib (Mekinist™), dasatinib (Sprycel™), imatinib (Gleevec™) y nilotinib (Tasigna™) y combinaciones de estos. En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un inhibidor de Bcl-2. En una realización, el inhibidor de Bcl-2 es ABT-199 o navitoclax.

35 En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un agente no terapéutico seleccionado para mejorar uno o más efectos secundarios del apilimod. En una realización, el agente no terapéutico se selecciona del grupo que consiste en ondansetrón, granisetron, dolasetron y palonosetrón. En realizaciones, el agente no terapéutico se selecciona del grupo que consiste en pindolol y risperidona.

40 En realizaciones, la composición es una forma de dosificación oral. En otras realizaciones, la composición es una forma de dosificación adecuada para administración intravenosa. En una realización, cuando la forma de dosificación es adecuada para administración intravenosa, la administración se realiza mediante una única inyección o mediante una bolsa de goteo. En otras realizaciones, la composición es una forma de dosificación adecuada para administración tópica mediante una crema, loción o gel.

45 En realizaciones de los métodos descritos aquí, el sujeto es un paciente humano con melanoma. En realizaciones, el paciente humano con melanoma que necesita tratamiento es uno que tiene melanoma en estadio tardío, maligno o metastásico. En realizaciones, el paciente humano con melanoma que necesita tratamiento es aquel cuyo cáncer es refractario a un régimen de quimioterapia estándar. En realizaciones, el paciente humano con melanoma que necesita tratamiento es aquel cuyo melanoma ha recurrido después del tratamiento con un régimen de quimioterapia estándar.

50 En realizaciones, el melanoma se selecciona de melanoma de propagación superficial, lentigo maligno, melanoma lentiginoso acral y melanoma nodular. En una realización, el régimen de quimioterapia estándar comprende uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en dacarbazina, temozolomida, Nab-paclitaxel, carmustina, cisplatino, carboplatino y vinblastina. En una realización, el régimen de inmunoterapia comprende uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en anticuerpos anti-CTLA4 (por ejemplo, ipilimumab); inhibidores de la vía PD-1/PDL-1, por ejemplo, pembrolizumab (Keytruda), avelumab, atezolizumab (MPDL3280A), nivolumab (BMS-936558), pidilizumab (MK-3475), MSB0010718C y MEDI4736; AMP-224, e interleucina-2 (IL-2, aldesleukin, Proleukin). En una realización, el régimen de terapia dirigida comprende uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en inhibidores de BRAF (por ejemplo, dabrafenib (Tafinlar) y vemurafenib (Zelboraf), inhibidores de MEK (por ejemplo, trametinib (Mekinist)) e inhibidores de KIT (por ejemplo, dasatinib (Sprycel), imatinib (Gleevec) y nilotinib (Tasigna)).

En realizaciones, el método es un método para tratar un melanoma usando una terapia de combinación que comprende apilimod y un régimen de quimioterapia para el tratamiento del melanoma. En una realización, el apilimod se administra como una terapia complementaria al régimen de quimioterapia. En realizaciones, el régimen de quimioterapia comprende uno o más de los inhibidores de la vía PD-1/PDL-1 seleccionados de pembrolizumab (Keytruda), avelumab, atezolizumab (MPDL3280A), nivolumab (BMS-936558), pidilizumab (MK-3475), MSB0010718C y MEDI4736. En realizaciones, el régimen de quimioterapia comprende uno o más de dacarbazina, temozolomida, Nab-paclitaxel, carmustina, cisplatino, carboplatino y vinblastina para el tratamiento del melanoma maligno o metastásico. En realizaciones, el régimen de quimioterapia comprende uno o más de vemurafenib, dabrafenib y trametinib para el melanoma metastásico. En una realización, el régimen de quimioterapia comprende uno o más de interleucina-2 e ipilimumab de dosis altas.

En realizaciones, la divulgación proporciona métodos para inducir o potenciar la autofagia o la apoptosis en una célula de melanoma. De acuerdo con esta realización, la célula de melanoma puede ser in vitro o in vivo. En una realización, la célula de melanoma está in vitro y se deriva de células Yulac614, RPM19951, MEL-JUSO, SK-MEL-2, SK-MEL-31, A101D y A2058. En una realización, la célula de melanoma está in vivo en un sujeto mamífero en un sitio distinto de la piel. En una realización, la célula de melanoma es un melanoma de etapa tardía. En una realización, la célula de melanoma es una célula metastásica o una célula que ha hecho metástasis.

La divulgación también proporciona un método para identificar a un paciente humano con melanoma para el tratamiento con una terapia de combinación que comprende apilimod y vemurafenib, el método que comprende analizar una muestra biológica del cáncer del sujeto para una o más de la mutación de la proteína V600E BRAF, la mutación de la proteína V600K BRAF, o sus equivalentes genéticos, en donde un sujeto que tiene cualquiera de estas mutaciones se identifica como un paciente para el tratamiento con una terapia de combinación que comprende apilimod y vemurafenib.

#### Breve descripción de los dibujos

Figura 1: cribado de células de melanoma Yulac614 con una biblioteca de 500 fármacos no aprobados con y sin vemurafenib (6  $\mu$ M) identificaron el apilimod como un fármaco que cuando se combina con vemurafenib ejerce una actividad sinérgica.

Figura 2: curva de respuesta a concentración de 10 puntos de vemurafenib (58,6 – 30.000 nM) por sí solo (línea negra) o con apilimod (500nM) (línea gris).

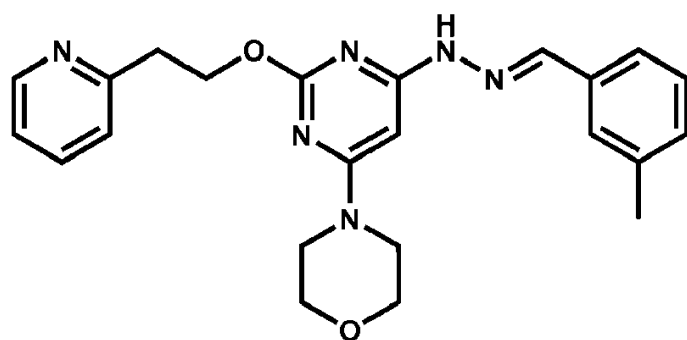
Figura 3: valores de IC50 en líneas celulares resistentes a vemurafenib tratadas con vemurafenib por sí solo (barras grises) o la combinación de vemurafenib y apilimod (barras negras).

Figura 4: valores de IC50 en líneas celulares resistentes a vemurafenib tratadas con vemurafenib por sí solo (barras grises) o la combinación de vemurafenib y apilimod (barras negras).

#### Descripción detallada de la invención

La presente divulgación proporciona composiciones y métodos relacionados con el uso de apilimod para tratar el melanoma en un sujeto, preferiblemente un sujeto humano, que necesita tal tratamiento. La divulgación se relaciona en general con nuevos usos de apilimod con base en el sorprendente descubrimiento de la actividad citotóxica de apilimod contra una variedad de células cancerosas como el melanoma. Además, la presente invención proporciona nuevas metodologías terapéuticas para el tratamiento del melanoma con base en una terapia de combinación que utiliza apilimod y al menos un agente terapéutico adicional. Las terapias de combinación descritas aquí explotan la actividad citotóxica única de apilimod que puede proporcionar un efecto sinérgico cuando se combina con otros agentes terapéuticos, incluidos, por ejemplo, agentes anticancerígenos.

Como se usa aquí, el término "apilimod" puede referirse al apilimod en sí (es decir, la base libre de apilimod), o puede abarcar sales, solvatos, clatratos, hidratos, polimorfos farmacéuticamente aceptables de apilimod, como se describe a continuación. En realizaciones, el apilimod es dimesilato de apilimod. La estructura de apilimod se muestra en la Fórmula I:



(I)

El nombre IUPAC de apilimod es: (E)-4-(6-(2-(3-metilbenciliden)hidrazinil)-2-(2-(piridin-2-il)etoxi)pirimidin-4-il) morfolina) y el número CAS es 541550-19-0.

5 Apilimod puede prepararse, por ejemplo, de acuerdo con los métodos descritos en las patentes de Estados Unidos Nos. 7,923,557 y 7,863,270 y el documento WO 2006/128129.

Como se usa aquí, el término "sal farmacéuticamente aceptable" es una sal formada a partir de, por ejemplo, un grupo ácido y uno básico de una composición de apilimod. Las sales ilustrativas incluyen, pero no se limitan a, sales de sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, ácido fosfato, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, besilato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato (por ejemplo, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). En una realización preferida, la sal de apilimod comprende metanosulfonato.

15 El término "sal farmacéuticamente aceptable" también se refiere a una sal preparada a partir de una composición de apilimod que tiene un grupo funcional ácido, tal como un grupo funcional ácido carboxílico y una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" también se refiere a una sal preparada a partir de una composición de apilimod que tiene un grupo funcional básico, tal como un grupo funcional amino, y un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable.

20 Las sales de los compuestos descritos aquí se pueden sintetizar a partir del compuesto original mediante métodos químicos convencionales, como los descritos en *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Hemrich Stalil (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, August 2002. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar el compuesto original con el ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos.

25 Una forma de sal de un compuesto descrito aquí puede convertirse en la base libre y opcionalmente en otra forma de sal por métodos bien conocidos por las personas experimentadas. Por ejemplo, la base libre puede formarse pasando la solución de sal a través de una columna que contiene una fase estacionaria de amina (por ejemplo, una columna Strata-NH<sub>2</sub>). Alternativamente, una solución de la sal en agua se puede tratar con bicarbonato de sodio para descomponer la sal y precipitar la base libre. La base libre puede combinarse entonces con otro ácido utilizando métodos de rutina.

30 Como se usa aquí, el término "polimorfo" significa formas cristalinas sólidas de un compuesto de la presente invención (por ejemplo, apilimod) o un complejo de este. Diferentes polimorfos del mismo compuesto pueden exhibir diferentes propiedades físicas, químicas y/o espectroscópicas. Las diferentes propiedades físicas incluyen, pero no se limitan a, estabilidad (por ejemplo, a calor o luz), compresibilidad y densidad (importante en la formulación y fabricación del producto), y tasas de disolución (que pueden afectar la biodisponibilidad). Las diferencias en la estabilidad pueden deberse a cambios en la reactividad química (por ejemplo, oxidación diferencial, de manera que una forma de dosificación se decolora más rápidamente cuando se compone de un polimorfo que cuando se compone de otro polimorfo) o características mecánicas (por ejemplo, los comprimidos se desmoronan en el almacenamiento en cuanto un polimorfo favorecido químicamente se convierte en un polimorfo termodinámicamente más estable) o en ambos (por ejemplo, los comprimidos de un polimorfo son más susceptibles a descomponerse en humedad alta). Las diferentes propiedades físicas de los polimorfos pueden afectar su procesamiento. Por ejemplo, un polimorfo podría tener más probabilidades de formar solvatos o podría ser más difícil de filtrar o lavar libre de impurezas que otro, debido, por ejemplo, a la forma o distribución de tamaño de sus partículas.

45 Como se usa aquí, el término "hidrato" significa un compuesto de la presente invención (por ejemplo, apilimod) o una sal de este, que incluye además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua enlazada por fuerzas intermoleculares no covalentes.

Como se usa aquí, el término "clatrato" significa un compuesto de la presente invención (por ejemplo, apilimod) o una de sus sales en forma de una estructura cristalina que contiene espacios (por ejemplo, canales) que tienen una molécula huésped (por ejemplo, un disolvente o agua) atrapada adentro.

5 Como se usa aquí, el término "solvato" o "solvato farmacéuticamente aceptable" es un solvato formado a partir de la asociación de una o más moléculas de disolvente a uno de los compuestos divulgados aquí (por ejemplo, apilimod). El término solvato incluye hidratos (por ejemplo, hemihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato y similares).

#### Melanoma

10 El melanoma es un tipo de cáncer de piel que se forma a partir de los melanocitos (células que contienen pigmento en la piel), que se encuentran en la epidermis de la piel. La epidermis es la capa superior o externa de las dos capas principales de células que forman la piel y está separada de las capas más profundas de la piel por la membrana basal. Cuando un cáncer de piel, como el melanoma, se hace más avanzado, generalmente penetra en la epidermis y crece a través de la membrana hacia las capas más profundas de la piel para acceder al suministro de sangre, lo que permite que el tumor haga metástasis.

15 Hay cuatro tipos básicos de melanoma. Tres de ellos comienzan in situ, lo que significa que ocupan solo las capas superiores de la piel y a veces, se vuelven invasivos; el cuarto es invasivo desde el principio. Los melanomas invasivos son más graves, ya que han penetrado más profundamente en la piel y pueden haberse diseminado a otras áreas del cuerpo.

20 El melanoma de propagación superficial es, marcadamente, el tipo más común, ya que representa alrededor del 70 por ciento de todos los casos. Este es el que más se ve en las personas jóvenes. Como su nombre indica, este melanoma crece a lo largo de la capa superior de la piel durante bastante tiempo antes de penetrar más profundamente.

25 El lentigo maligno es similar al tipo de propagación superficial, ya que también permanece cerca de la superficie de la piel durante bastante tiempo y generalmente aparece como una decoloración moteada de color bronce, marrón o marrón oscuro, plana o ligeramente elevada. Este tipo de melanoma in situ se encuentra con mayor frecuencia en personas de edad avanzada, que surgen en la piel dañada expuesta al sol de manera crónica, de la cara, orejas, brazos y parte superior del tronco. Cuando este cáncer se vuelve invasivo, se lo conoce como melanoma lentigo maligno.

30 El melanoma lentiginoso acral también se disemina superficialmente antes de penetrar más profundamente. Sin embargo, es bastante diferente de los demás, ya que generalmente aparece como una decoloración negra o marrón debajo de las uñas o en las plantas de los pies o las palmas de las manos. Este tipo de melanoma a veces se encuentra en personas de piel oscura y a menudo, puede avanzar más rápidamente que el melanoma de propagación superficial y el lentigo maligno. Es el melanoma más común en los afroamericanos y asiáticos, y el menos común entre los caucásicos.

35 El melanoma nodular suele ser invasivo en el momento en que se diagnostica por primera vez. La malignidad se reconoce cuando se convierte en un bulto. Generalmente es negro, pero en ocasiones es azul, gris, blanco, marrón, bronce, rojo o del tono de la piel.

#### Métodos de tratamiento

40 La divulgación proporciona métodos para el tratamiento del melanoma en un sujeto que lo necesita administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de apilimod, o una sal, solvato, clatrato, hidrato, polimorfo farmacéuticamente aceptable de este. En realizaciones, el apilimod es dimesilato de apilimod. La divulgación proporciona además el uso de apilimod en la preparación de un medicamento para el tratamiento del melanoma.

45 En el contexto de los métodos descritos aquí, la cantidad de apilimod administrada al sujeto es una cantidad terapéuticamente eficaz. El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para tratar, mejorar un síntoma de, reducir la gravedad de, estabilizar o causar la regresión del melanoma en el sujeto que se está tratando, o para potenciar o mejorar el efecto terapéutico de otra terapia, como el vemurafenib.

50 De acuerdo con los métodos descritos aquí, un "sujeto que lo necesita" es un sujeto que tiene melanoma. En un aspecto, el sujeto es un paciente humano que tiene melanoma maligno o melanoma en estadio tardío. En este contexto, "estadio" se refiere a estadio clínico del cáncer. Por ejemplo, melanoma en estadio 0 a 2 o melanoma en estadio 3 o estadio 4. En una realización, el sujeto es un paciente humano que tiene melanoma en estadio 3 o estadio 4. El sujeto que lo necesite puede ser uno que "no responde" o "refractario" a una terapia actualmente disponible, por ejemplo, el cáncer del sujeto puede ser resistente o refractor al tratamiento con vemurafenib. En este contexto, los términos "no responde" y "refractario" se refieren a la respuesta del sujeto a la terapia como no clínicamente significativa de acuerdo con la definición de una respuesta clínica en la práctica médica estándar.

55 Terapia de combinación

- La divulgación también proporciona métodos que comprenden terapia de combinación con apilimod. Como se usa aquí, "terapia de combinación" o "coterapia" incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una terapia primaria (por ejemplo, apilimod) con al menos un agente terapéutico adicional, como parte de un régimen de tratamiento específico destinado a proporcionar un efecto beneficioso de la coacción de la terapia primaria y el agente terapéutico adicional. La "terapia de combinación" no pretende abarcar la administración de dos o más compuestos terapéuticos como parte de regímenes de monoterapia separados que, de manera incidental y arbitraria, den como resultado un efecto beneficioso que no se pretendía ni estaba previsto.
- En una realización, el método es un método para tratar el melanoma usando una terapia de combinación que comprende apilimod y un régimen de quimioterapia para el tratamiento de melanoma. En una realización, el régimen de quimioterapia se selecciona de dacarbazina, temozolomida, Nab-paclitaxel, carmustina, cisplatino, carboplatino, vinblastina y combinaciones de estos.
- En realizaciones, el al menos un agente activo adicional puede ser un agente terapéutico, por ejemplo, un agente anticanceroso o un agente quimioterapéutico contra el cáncer, o un agente no terapéutico, y combinaciones de estos. Con respecto a los agentes terapéuticos, el efecto beneficioso de la combinación incluye, pero no se limita a, la coacción farmacocinética o farmacodinámica resultante de la combinación de compuestos terapéuticamente activos. Con respecto a los agentes no terapéuticos, el efecto beneficioso de la combinación puede relacionarse con la mitigación de una toxicidad, efecto secundario o evento adverso asociado con un agente terapéuticamente activo en la combinación.
- En realizaciones, el al menos un agente adicional es un agente no terapéutico que mitiga uno o más efectos secundarios del apilimod, el uno o más efectos secundarios seleccionados de cualquiera de náuseas, vómito, dolor de cabeza, mareos, aturdimiento, somnolencia y estrés. En un aspecto de esta realización, el agente no terapéutico es un antagonista de un receptor de serotonina, también conocido como receptores de 5-hidroxitriptamina o receptores de 5-HT. En un aspecto, el agente no terapéutico es un antagonista de un receptor 5-HT<sub>3</sub> o 5-HT<sub>1a</sub>. En un aspecto, el agente no terapéutico se selecciona del grupo que consiste en ondansetrón, granisetron, dolasetron y palonosetrón. En otro aspecto, el agente no terapéutico se selecciona del grupo que consiste en pindolol y risperidona.
- En realizaciones, el al menos un agente adicional es un agente terapéutico. En una realización, el agente terapéutico es un agente anticanceroso. En realizaciones, el agente anticanceroso es vemurafenib. En una realización, el apilimod se administra junto con vemurafenib en una forma de dosificación única o en formas de dosificación separadas. En una realización, la forma de dosificación es una forma de dosificación oral. En otra realización, la forma de dosificación es adecuada para administración intravenosa.
- En realizaciones, el agente anticanceroso es un fármaco aprobado para su uso en el tratamiento de melanoma. Los ejemplos no limitantes de tales fármacos incluyen aldesleucina, dabrafenib, dacarbazina, DTIC-Dome (darcabazina), intronA (interferón recombinante Alfa-2b), ipilimumab, keytruda (pembrolizumab), mekinist (trametinib), nivolumab, peginterferon alfa-2b, PEG-Intron (peginterferon alfa-2b), pembrolizumab, proleukin (aldesleucina), interferon alfa-2b recombinante, sylvatron (peginterferon alfa-2b), tafinlar (dabrafenib), trametinib, vemurafenib, yervoy(ipilimumab), zelboraf (vemurafenib).
- En realizaciones, el agente anticanceroso se selecciona de un inhibidor de EZH2, por ejemplo, EPZ-6438. En una realización, el agente anticanceroso se selecciona de taxol, vincristina, doxorubicina, temsirolimus, carboplatino, ofatumumab, rituximab y combinaciones de estos.
- En realizaciones, el agente anticanceroso es un inhibidor de Bcl-2. En una realización, el inhibidor de Bcl-2 es ABT-199 o navitoclax.
- En realizaciones, el al menos un agente adicional se selecciona entre clorambucilo, ifosfamida, doxorubicina, mesalazina, talidomida, lenalidomida, temsirolimus, everolimus, fludarabina, fostamatinib, paclitaxel, docetaxel, ofatumumab, rituximab, dexametasona, prednisona, CAL-101, ibritumomab tositumomab, bortezomib, pentostatina, endostatina, o una combinación de estos.
- En realizaciones, el al menos un agente adicional es un anticuerpo monoclonal tal como, por ejemplo, alemtuzumab, bevacizumab, catumaxomab, cetuximab, edrecolomab, gemtuzumab, ofatumumab, panitumumab, rituximab, trastuzumab, eculizumab, efalizumab, muromab-CD3, natalizumab, adalimumab, afelimomab, certolizumab pegol, golimumab, infliximab, basiliximab, canaquinumab, daclizumab, mepolizumab, tocilizumab, ustequinumab, ibritumomab tiuxetan, tositumomab, abagovomab, adecatumumab, alemtuzumab, anticuerpo X Mab2513 monoclonal anti-CD30, anticuerpo MetMab monoclonal anti-MET, apolizumab, apomab, arcitumomab, basiliximab, anticuerpo 2B1 biespecífico, blinatumomab, brentuximab vedotin, capromab pendetida, cixutumumab, claudiximab, conatumumab, dacetuzumab, denosumab, eculizumab, epratuzumab, ertumaxomab, etaracizumab, figitumumab, fresolimumab, galiximab, ganitumab, gemtuzumab ozogamicina, glembatumumab, ibritumomab, inotuzumab ozogamicina, ipilimumab, lexatumumab, lintuzumab, lintuzumab, lucatumumab, mapatumumab, matuzumab, milatuzumab, anticuerpo CC49 monoclonal, necitumumab, nimotuzumab, ofatumumab, oregovomab, pertuzumab, ramacurimab, ranibizumab, siplizumab, sonepcizumab, tanezumab, tositumomab, trastuzumab, tremelimumab, tucotuzumab, celmoleucina, veltuzumab, visilizumab, volociximab y zalutumumab.

En realizaciones, el al menos un inhibidor adicional es un inhibidor de BRAF, un inhibidor de MEK, un inhibidor de PD-1/PD-L1 o un inhibidor de punto de control.

En realizaciones, el inhibidor de la vía PD-1/PDL-1 se selecciona de pembrolizumab (Keytruda), avelumab, atezolizumab (MPDL3280A), nivolumab (BMS-936558), pidilizumab (MK-3475), MSB0010718C y MEDI4736.

5 En el contexto de la terapia de combinación, la administración del apilimod puede ser simultánea con o secuencial a la administración del uno o más agentes activos adicionales. En realizaciones, la administración de los diferentes componentes de una terapia de combinación puede ser a diferentes frecuencias. El uno o más agentes adicionales se pueden administrar antes de (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas antes), concomitantemente con o subsecuente a (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas, o 12 semanas después) de la administración de un compuesto de la presente invención.

15 El uno o más agentes activos adicionales se pueden formular para la coadministración con el apilimod en una única forma de dosificación, como se describe con mayor detalle aquí. El uno o más agentes activos adicionales se pueden administrar por separado de la forma de dosificación que comprende el apilimod. Cuando el agente activo adicional se administra por separado del apilimod, puede ser por la misma o diferente vía de administración que el apilimod.

20 Preferiblemente, la administración de apilimod en combinación con uno o más agentes adicionales proporciona una respuesta sinérgica en el sujeto que se está tratando. En este contexto, el término "sinérgico" se refiere a que la eficacia de la combinación es más eficaz que los efectos aditivos de cualquiera de las terapias individuales por sí solas. El efecto sinérgico de una terapia de combinación puede permitir el uso de dosificaciones más bajas y/o la administración menos frecuente de al menos un agente en la combinación en comparación con su dosis y/o frecuencia fuera de la combinación. Los efectos beneficiosos adicionales de la combinación pueden manifestarse en la evitación o reducción de los efectos secundarios adversos o no deseados asociados con el uso de cualquiera de las terapias en la combinación sola (también conocida como monoterapia).

25 La "terapia de combinación" también abarca la administración de un compuesto terapéutico en combinación con una o más terapias no farmacológicas (por ejemplo, cirugía o radioterapia). Donde la terapia de combinación comprende además un tratamiento no farmacológico, el tratamiento no farmacológico puede llevarse a cabo en cualquier momento adecuado siempre que se logre un efecto beneficioso de la coacción de la combinación de los compuestos terapéuticos y el tratamiento no farmacológico. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto beneficioso todavía se logra cuando el tratamiento no farmacológico se elimina temporalmente de la administración de los compuestos terapéuticos, quizás por días o incluso semanas.

30 De acuerdo con cualquiera de los métodos descritos aquí, una cantidad terapéuticamente eficaz de apilimod puede variar de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 1.000 mg/kg, aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 250 mg/kg, aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg; o cualquier intervalo en el que el límite inferior del intervalo sea cualquier cantidad entre 0,001 mg/kg y 900 mg/kg y el extremo superior del intervalo sea cualquier cantidad entre 0,1 mg/kg y 1.000 mg/kg (por ejemplo, 0,005 mg/kg y 200 mg/kg, 0,5 mg/kg y 20 mg/kg). Las dosis eficaces también variarán, como reconocen las personas experimentadas en la técnica, dependiendo de las enfermedades tratadas, la vía de administración, el uso de excipientes y la posibilidad de coutilización con otros tratamientos terapéuticos, como el uso de otros agentes. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos No. 7,863,270.

35 En realizaciones, el apilimod se administra en un régimen de dosificación de 30-1.000 mg/día (por ejemplo, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275 o 300 mg/día) durante al menos 1 semana (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 36, 48, o más semanas). Preferiblemente, el apilimod se administra en un régimen de dosificación de 100-1.000 mg/día durante 4 o 16 semanas. De manera alternativa o posterior, el apilimod se administra en un régimen de dosificación de 100 mg-300 mg dos veces al día durante 8 semanas, u opcionalmente, durante 52 semanas. De manera alternativa o posterior, el apilimod se administra en un régimen de dosificación de 50 mg-1.000 mg dos veces al día durante 8 semanas, u opcionalmente, durante 52 semanas.

40 Se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del apilimod una vez al día, de dos a cinco veces al día, hasta dos veces o hasta tres veces al día, o hasta ocho veces al día. En realizaciones, el apilimod se administra tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, por catorce días más (cuatro veces al día, tres veces al día o dos veces al día o una vez al día) y 7 días de descanso en un ciclo de 3 semanas, hasta por cinco o siete días más (cuatro veces al día, tres veces al día o dos veces al día o una vez al día) y de 14-16 días de descanso en un ciclo de 3 semanas, o una vez cada dos días, o una vez a la semana, o una vez cada 2 semanas, o una vez cada 3 semanas.

45 Un "sujeto" como se usa en el contexto de los métodos descritos aquí es preferiblemente un sujeto humano, pero también puede incluir otros mamíferos. El mamífero puede ser, por ejemplo, cualquier mamífero, por ejemplo, un ser



humano, primate, vertebrado, ave, ratón, rata, ave de corral, perro, gato, vaca, caballo, cabra, camello, oveja o cerdo. El término "paciente" se refiere a un sujeto humano.

5 La divulgación también proporciona una monoterapia para el tratamiento del melanoma utilizando apilimod. Como se usa aquí, "monoterapia" se refiere a la administración de un solo compuesto activo o terapéutico, es decir, apilimod, a un sujeto que lo necesite.

Como se usa aquí, "tratamiento", "tratando" o "tratar" describe el manejo y cuidado de un paciente con el fin de combatir una enfermedad, afección o trastorno e incluye la administración de una composición de apilimod para aliviar los síntomas o complicaciones de una enfermedad, afección o trastorno o para eliminar la enfermedad, afección o trastorno.

10 En realizaciones, la administración de apilimod conduce a la eliminación de un síntoma o complicación del melanoma que se está tratando, sin embargo, la eliminación no es necesaria. En una realización, la gravedad del síntoma disminuye. En el contexto del cáncer, tales síntomas pueden incluir marcadores clínicos de severidad o progresión, incluido el grado en que un tumor secreta los factores de crecimiento, degrada la matriz extracelular, se vasculariza, pierde adherencia a los tejidos yuxtapuestos o hace metástasis, así como el número de metástasis.

15 El tratamiento del melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en una reducción en el tamaño de un tumor. Una reducción en el tamaño de un tumor también puede denominarse como "regresión tumoral". Preferiblemente, después del tratamiento, el tamaño del tumor se reduce en un 5% o más en relación con su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, el tamaño del tumor se reduce en un 10% o más; más preferiblemente, se reduce en un 20% o más; más preferiblemente, se reduce en un 30% o más; más preferiblemente, se reduce en un 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en un 50% o más; y lo más preferiblemente, se reduce en más del 75% o más. El tamaño de un tumor puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. El tamaño de un tumor se puede medir como un diámetro del tumor.

20 El tratamiento del melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en una reducción en el volumen del tumor. Preferiblemente, después del tratamiento, el volumen del tumor se reduce en un 5% o más en relación con su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, el volumen del tumor se reduce en un 10% o más; más preferiblemente, se reduce en un 20% o más; más preferiblemente, se reduce en un 30% o más; más preferiblemente, se reduce en un 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en un 50% o más; y lo más preferiblemente, se reduce en más del 75% o más. El volumen del tumor puede medirse por cualquier medio de medición reproducible.

30 El tratamiento del melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en una disminución en el número de tumores. Preferiblemente, después del tratamiento, el número de tumores se reduce en un 5% o más en relación con el número antes del tratamiento; más preferiblemente, el número de tumores se reduce en un 10% o más; más preferiblemente, se reduce en un 20% o más; más preferiblemente, se reduce en un 30% o más; más preferiblemente, se reduce en un 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en un 50% o más; y lo más preferiblemente, se reduce en más del 75%. El número de tumores puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. El número de tumores se puede medir contando los tumores visibles a simple vista o con una magnificación específica. Preferiblemente, la magnificación específica es 2x, 3x, 4x, 5x, 10x o 50x.

40 El tratamiento del melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en una disminución en el número de lesiones metastásicas en otros tejidos u órganos distantes del sitio del tumor primario. Preferiblemente, después del tratamiento, el número de lesiones metastásicas se reduce en un 5% o más en relación con el número antes del tratamiento; más preferiblemente, el número de lesiones metastásicas se reduce en un 10% o más; más preferiblemente, se reduce en un 20% o más; más preferiblemente, se reduce en un 30% o más; más preferiblemente, se reduce en un 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en un 50% o más; y lo más preferiblemente, se reduce en más del 75%. El número de lesiones metastásicas se puede medir por cualquier medio de medición reproducible. El número de lesiones metastásicas se puede medir contando las lesiones metastásicas visibles a simple vista o con una magnificación específica. Preferiblemente, la magnificación específica es 2x, 3x, 4x, 5x, 10x o 50x.

50 El tratamiento del melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población de sujetos tratados en comparación con una población que recibe solo portador. Preferiblemente, el tiempo de supervivencia promedio se incrementa en más de 30 días; más preferiblemente, por más de 60 días; más preferiblemente, por más de 90 días; y lo más preferiblemente, por más de 120 días. Un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población puede medirse, por ejemplo, calculando para una población la duración promedio de la supervivencia después del inicio del tratamiento con un compuesto activo. Un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población también se puede medir, por ejemplo, calculando para una población el tiempo de supervivencia promedio después de completar una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.

55 El tratamiento de melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población de sujetos tratados en comparación con una población que recibe monoterapia con un fármaco que no es apilimod. Preferiblemente, el tiempo de supervivencia promedio se incrementa

en más de 30 días; más preferiblemente, por más de 60 días; más preferiblemente, por más de 90 días; y lo más preferiblemente, por más de 120 días. Un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población puede medirse, por ejemplo, calculando para una población la duración promedio de la supervivencia después del inicio del tratamiento con un compuesto activo. Un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población también se puede medir, por ejemplo, calculando para una población el tiempo de supervivencia promedio después de completar una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.

El tratamiento de melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en una disminución en la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados en comparación con una población que recibe solo portador. El tratamiento de melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en una disminución en la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados en comparación con una población no tratada. El tratamiento de melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en una disminución en la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados en comparación con una población que recibe monoterapia con un fármaco que no es apilimod. Preferiblemente, la tasa de mortalidad se reduce en más del 2%; más preferiblemente, en más del 5%; más preferiblemente, en más del 10%; y lo más preferiblemente, en más del 25%. Una disminución en la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados puede medirse por cualquier medio reproducible. Una disminución en la tasa de mortalidad de una población puede medirse, por ejemplo, calculando para una población el número promedio de muertes relacionadas con la enfermedad por unidad de tiempo después del inicio del tratamiento con un compuesto activo. Una disminución en la tasa de mortalidad de una población también se puede medir, por ejemplo, calculando para una población el número promedio de muertes relacionadas con la enfermedad por unidad de tiempo después de completar una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.

El tratamiento del melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en una disminución en la tasa de crecimiento del tumor. Preferiblemente, después del tratamiento, la tasa de crecimiento del tumor se reduce en al menos un 5% en relación con el número antes del tratamiento; más preferiblemente, la tasa de crecimiento del tumor se reduce en al menos un 10%; más preferiblemente, se reduce en al menos 20%; más preferiblemente, se reduce en al menos 30%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 40%; más preferiblemente, se reduce en al menos 50%; incluso más preferiblemente, se reduce en al menos un 50%; y lo más preferiblemente, se reduce en al menos un 75%. La tasa de crecimiento del tumor se puede medir por cualquier medio de medición reproducible. La tasa de crecimiento del tumor se puede medir de acuerdo con un cambio en el diámetro del tumor por unidad de tiempo. En una realización, después del tratamiento, la tasa de crecimiento del tumor puede ser aproximadamente cero y se determina que mantiene el mismo tamaño, por ejemplo, ha dejado de crecer.

El tratamiento de un melanoma de acuerdo con los métodos descritos aquí puede resultar en una disminución en la reaparición tumoral. Preferiblemente, después del tratamiento, la reaparición tumoral es inferior al 5%; más preferiblemente, la reaparición tumoral es inferior al 10%; más preferiblemente, menos del 20%; más preferiblemente, menos del 30%; más preferiblemente, menos del 40%; más preferiblemente, menos del 50%; aún más preferiblemente, menos del 50%; y lo más preferiblemente, menos del 75%. La reaparición tumoral puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. La reaparición tumoral se mide, por ejemplo, midiendo un aumento en el diámetro de un tumor después de un previo encogimiento tumoral que siguió al tratamiento. Una disminución en la reaparición tumoral está indicada por la falla de los tumores para volver a aparecer después de que el tratamiento se haya detenido.

Como se usa aquí, el término "selectivamente" significa que tiende a ocurrir con mayor frecuencia en una población que en otra población. Las poblaciones comparadas pueden ser poblaciones celulares. Preferiblemente, el apilimod actúa selectivamente en células hiperproliferativas o células de proliferación anormal, en comparación con las células normales. Como se usa aquí, una "célula normal" es una célula que no puede clasificarse como parte de un "trastorno de proliferación celular". Una célula normal carece de crecimiento no regulado o anormal, o ambos, que puede conducir al desarrollo de una condición o enfermedad no deseada. Preferiblemente, una célula normal posee mecanismos de control de punto de control del ciclo celular que funcionan normalmente. Preferiblemente, apilimod actúa selectivamente para modular un objetivo molecular (por ejemplo, una quinasa objetivo) pero no modula significativamente otro objetivo molecular (por ejemplo, una quinasa no objetivo). La divulgación también proporciona un método para inhibir selectivamente la actividad de una enzima, como una quinasa. Preferiblemente, un evento ocurre selectivamente en la población A en relación con la población B si ocurre más de dos veces más frecuentemente en la población A en comparación con la población B. Un evento ocurre selectivamente si ocurre más de cinco veces más frecuentemente en la población A. Un evento ocurre selectivamente si ocurre más de diez veces más frecuentemente en la población A; más preferiblemente, más de cincuenta veces; aún más preferiblemente, más de 100 veces; y lo más preferiblemente, más de 1.000 veces más frecuentemente en la población A en comparación con la población B. Por ejemplo, se diría que la muerte celular ocurre selectivamente en células enfermas o hiperproliferativas si ocurriera con más del doble de frecuencia en células enfermas o hiperproliferativas en comparación con las células normales.

#### Composiciones farmacéuticas y formulaciones

La divulgación proporciona composiciones que comprenden apilimod que son composiciones farmacéuticamente aceptables adecuadas para uso en un mamífero, preferiblemente un humano. En este contexto, las composiciones

pueden comprender además al menos un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable, en el que la cantidad es eficaz para el tratamiento del melanoma. En realizaciones, el apilimod es dimesilato de apilimod.

En realizaciones, el apilimod se combina con al menos un agente activo adicional en una única forma de dosificación. En una realización, la composición comprende además un antioxidante.

- 5 En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste en un inhibidor de la proteína quinasa, un agente antineoplásico a base de platino, un inhibidor de topoisomerasa, un inhibidor metabólico de nucleósidos, un agente alquilante, un agente intercalante un agente enlazador de tubulina, un inhibidor de BRAF y combinaciones de estos. En realizaciones, el agente terapéutico es un inhibidor de la proteína quinasa, un agente alquilante, un agente intercalante, un agente enlazador de tubulina, un corticosteroide y combinaciones de estos. En realizaciones, el agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en vemurafenib, ibrutinib, rituximab, doxorubicina, prednisolona, vincristina, velcade y everolimus y combinaciones de estos.

En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un inhibidor de BRAF, un inhibidor de MEK, un inhibidor de PD-1/PD-L1 o un inhibidor de punto de control.

- 15 En realizaciones, el inhibidor de la vía PD-1/PDL-1 se selecciona de pembrolizumab (Keytruda), avelumab, atezolizumab (MPDL3280A), nivolumab (BMS-936558), pidilizumab (MB-3475), MSB0010718C y MEDI4736.

En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste en dacarbazina, temozolomida, Nab-paclitaxel, carmustina, cisplatino, carboplatino, vinblastina, ipilimumab, interleucina-2 (IL-2, Proleukin), pembrolizumab (Keytruda), dabrafenib (Tafinlar), vemurafenib (Zelboraf), trametinib (Mekinist), dasatinib (Sprycel), imatinib (Gleevec) y nilotinib (Tasigna) y sus combinaciones.

- 20 En realizaciones, el al menos un agente activo adicional es un agente no terapéutico seleccionado para mejorar uno o más efectos secundarios del apilimod. En realizaciones, el agente no terapéutico se selecciona del grupo que consiste en ondansetrón, granisetron, dolasetron y palonosetrón. En realizaciones, el agente no terapéutico se selecciona del grupo que consiste en pindolol y risperidona.

- 25 En realizaciones, el al menos un agente activo adicional se selecciona de un inhibidor de BRAF, un inhibidor de la vía Raf/MEK/ERK, un inhibidor de la vía mTOR, un inhibidor de PI3K, un inhibidor doble de PI3K/mTOR, un inhibidor de SRC, un inhibidor de VEGF, un inhibidor de Janus quinasa (JAK), un inhibidor de Raf, un inhibidor de Erk, un inhibidor de la farnesil transferasa, un inhibidor de histona desacetilasa, un agente antimetabólico, un inhibidor de flujo de resistencia a múltiples fármacos, un antibiótico y un anticuerpo terapéutico. En una realización, el al menos un agente activo adicional se selecciona de un inhibidor de la farnesil transferasa (por ejemplo, tipifarnib), un agente antimetabólico (por ejemplo, docetaxel), un inhibidor de histona desacetilasa (por ejemplo, vorinostat) y un inhibidor de flujo de resistencia a múltiples fármacos.

- 30 En realizaciones, el inhibidor de mTOR se selecciona del grupo que consiste en rapamicina (también conocida como sirolimus), everolimus, temsirolimus, ridaforolimus, umirolimus, zotarolimus, AZD8055, INK128, WYE-132, Torin-1, análogos de pirazolopirimidina PP242, PP30, PP487, PP121, KU0063794, KU-BMCL-200908069-1, Wyeth-BMCL-200910075-9b, INK-128, XL388, AZD8055, P2281 y P529. Véase, por ejemplo, Liu et al. Drug Disc. Today Ther. Strateg., 6(2): 47-55 (2009).

- 35 En realizaciones, el inhibidor de mTOR es trans-4-[4-amino-5-(7-metoxi-1H-indol-2-il)imidazo[5,1-f][1,2,4]triazin-7-il]ciclohexano ácido carboxílico (también conocido como OSI-027) y cualquier sal, solvato, hidrato y otras formas físicas, cristalinas o amorfas, de estos. Ver el documento US 2007/0112005. OSI-027 puede prepararse de acuerdo con el documento US 2007/0112005. En una realización, el inhibidor de mTOR es OXA-01. Véase, por ejemplo, el documento WO 2013152342 A1.

- 40 En realizaciones, el inhibidor de PI3K se selecciona del grupo que consiste en GS-1101 (Idelalisib), GDC0941 (Pictilisib), LY294002, BKM120 (Buparlisib), PI-103, TGX-221, IC-87114, XL 147, ZSTK474, BYL719, AS-605240, PIK-75, 3-metiladenina, A66, PIK-93, PIK-90, AZD6482, IPI-145 (Duvelisib), TG100-115, AS-252424, PIK294, AS-604850, GSK2636771, BAY 80-6946 (Copanlisib), CH5132799, CAY10505, PIK-293, TG100713, CZC24832 y HS-173.

- 45 En realizaciones, el inhibidor doble de PI3K/mTOR se selecciona del grupo que consiste en, GDC-094, WAY-001, WYE-354, WAY-600, WYE-687, Wyeth-BMCL-200910075-16b, Wyeth-BMCL-200910096-27, KU0063794 y KUBMCL-200908069-5, NVP-BEZ235, XL-765, PF-04691502, GDC-0980 (Apatolisib), GSK1059615, PF-05212384, BGT226, PKI-402, VS-558 y GSK2126458. Véase, por ejemplo, Liu et al. Drug Disc. Today Ther. Strateg., 6(2): 47-55 (2009).

- 50 En realizaciones, el inhibidor de la vía mTOR es un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo) o un ácido nucleico (por ejemplo, un ARN de doble cadena pequeño de interferencia, un ARN de horquilla corta, un microARN, un oligonucleótido antisentido, un ácido nucleico bloqueado, o un aptámero), que se enlaza a e inhibe el nivel de expresión o actividad de una proteína (o ácido nucleico que codifica la proteína) en la vía de mTOR. Por ejemplo, el polipéptido o ácido nucleico inhibe el Complejo 1 de mTOR (mTORC1), la proteína asociada a los

5 reguladores de mTOR (Raptor), la proteína 8 con SEC 13 letal para mamíferos (MLST8), sustrato de Akt rico en prolina de 40 kDa (PRAS40), DEP proteína que interactúa con mTOR que contiene dominio (DEPTOR), complejo 2 de mTOR (mTORC2), complementario de mTOR insensible a la rapamicina (RICTOR), tipo subunidad beta de la proteína G (GβL), proteína 1 de mamíferos que interactúa con proteína quinasa activada por estrés (mSIN1), paxilina, RhoA, sustrato 1 de toxina botulínica C3 relacionado con Ras (Rac1), homólogo de la proteína 42 de control de la división celular (Cdc42), proteína quinasa C α (PKCα), la proteína quinasa Akt serina/treonina, fosfoinositido 3-quinasa (PI3K), p70S6K, Ras, y/o factor 4E de iniciación de la traducción eucariota (eIF4E)-proteínas de enlace (4EBPs), o el ácido nucleico que codifica una de estas proteínas.

10 En realizaciones, el inhibidor de SRC se selecciona del grupo que consiste en bosutinib, saracatinib, dasatinib, ponatinib, KX2-391, XL-228, TG100435/TG100855 y DCC2036. Véase, por ejemplo, Puls et al. *Oncologist*. 2011 May; 16(5): 566-578. En una realización, el inhibidor de la SRC es un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de este) o ácido nucleico (por ejemplo, un ARN de interferencia pequeño de doble cadena, un ARN de horquilla corta, un microARN, un oligonucleótido antisentido, un ácido nucleico bloqueado o un aptámero) que se enlaza a e inhibe el nivel de expresión o la actividad de la proteína SRC o un ácido nucleico que codifica la proteína SRC.

15 En realizaciones, el inhibidor de VEGF se selecciona de bevacizumab, sunitinib, pazopanib, axitinib, sorafenib, regorafenib, lenvatinib y motesanib. En una realización, el inhibidor de VEGF es un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo) o ácido nucleico (por ejemplo, un ARN de interferencia pequeño de doble cadena, un ARN de horquilla corta, un microARN, un oligonucleótido antisentido, un morfolino, un ácido nucleico bloqueado o un aptámero) que se enlaza a e inhibe el nivel de expresión o la actividad de una proteína VEGF, una proteína receptora de VEGF o un ácido nucleico que codifica una de estas proteínas. Por ejemplo, el inhibidor de VEGF es un receptor de VEGF soluble (por ejemplo, un receptor de VEGF-C/D soluble (sVEGFR-3)).

20 En realizaciones, el inhibidor de JAK se selecciona de facitinib, ruxolitinib, baricitinib, CYT387 (número CAS 1056634-68-4), lestaurtinib, pacritinib y TG101348 (número CAS 936091-26-8). En una realización, el inhibidor de JAK es un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo) o ácido nucleico (por ejemplo, un ARN de interferencia pequeño de doble cadena, un ARN de horquilla corta, un microARN, un oligonucleótido antisentido, un morfolino, un ácido nucleico bloqueado o un aptámero) que se enlaza a e inhibe el nivel de expresión o actividad de un JAK (por ejemplo, JAK1, JAK2, JAK3 o TYK2) o un ácido nucleico que codifica la proteína JAK.

25 En realizaciones, el inhibidor de Raf se selecciona de PLX4032 (vemurafenib), sorafenib, PLX-4720, GSK2118436 (dabrafenib), GDC-0879, RAF265, AZ 628, NVP-BHG712, SB90885, ZM 336372, GW5074, TAK, 632, CEP-32496 y LGX818 (Encorafenib). En una realización, el inhibidor de Raf es un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo) o ácido nucleico (por ejemplo, un ARN de interferencia pequeño de doble cadena, un ARN de horquilla corta, un microARN, un oligonucleótido antisentido, un morfolino, un ácido nucleico bloqueado o un aptámero) que se enlaza a e inhibe el nivel de expresión o actividad de un Raf (por ejemplo, A-Raf, B-Raf, C-Raf) o un ácido nucleico que codifica la proteína Raf. En una realización, el inhibidor de MEK se selecciona de entre AZD6244 (Selumetinib), PD0325901, GSK1120212 (Trametinib), U0126-EtOH, PD184352, RDEA119 (Rafametinib), PD98059, BIX 02189, MEK162 (Binimetinib), AS-703026 (Pimasertib), SL-327, BIX02188, AZD8330, TAK-733 y PD318088. En una realización, el inhibidor de MEK es un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo) o ácido nucleico (por ejemplo, un ARN de interferencia pequeño de doble cadena, un ARN de horquilla corta, un microARN, un oligonucleótido antisentido, un morfolino, un ácido nucleico bloqueado o un aptámero) que se enlaza a e inhibe el nivel de expresión o la actividad de una MEK (por ejemplo, MEK-1, MEK-2) o un ácido nucleico que codifica la proteína MEK.

30 En realizaciones, el inhibidor de Akt se selecciona de MK-2206, KRX-0401 (perifosina), GSK690693, GDC-0068 (Ipatasertib), AZD5363, CCT128930, A-674563, PHT-427. En una realización, el inhibidor de Akt es un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo) o ácido nucleico (por ejemplo, un ARN de interferencia pequeño de doble cadena, un ARN de horquilla corta, un microARN, un oligonucleótido antisentido, un morfolino, un ácido nucleico bloqueado o un aptámero) que se enlaza a e inhibe el nivel de expresión o la actividad de un Akt (por ejemplo, Akt-1, Akt-2, Akt-3) o un ácido nucleico que codifica la proteína Akt.

35 En realizaciones, el inhibidor de la farnesil transferasa se selecciona de LB42708 o tipifarnib. En una realización, el inhibidor de la farnesil transferasa es un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo) o ácido nucleico (por ejemplo, un ARN de interferencia pequeño de doble cadena, un ARN de horquilla corta, un microARN, un oligonucleótido antisentido, un morfolino, un ácido nucleico bloqueado o un aptámero) que se enlaza a e inhibe el nivel de expresión o la actividad de la farnesil transferasa o un ácido nucleico que codifica la proteína farnesil transferasa. En una realización, el inhibidor de la modulación de histonas se selecciona de entre ácido anacárdico, C646, MG149 (histona acetiltransferasa), GSK J4 Hcl (histona demetilasa), GSK343 (activo contra EZH2), BIX 01294 (histona metiltransferasa), MK0683 (Vorinostat), LBH589 (Panobinostat), Tricostatina A, MGCD0103 (Mocetinostat), Tasquinimod, TMP269, Nexturastat A, RG2833, PDX101 (Belinostat).

40 En las realizaciones, el agente antimetabólico se selecciona de griseofulvina, tartrato de vinorelbina, paclitaxel, docetaxel, vincristina, vinblastina, epotilona A, epotilona B, ABT-751, CYT997 (Lexibulin) tartrato de vinflunina, Fosbretabulin, GSK461364, ON-01910 (Rigosertib), Ro3280, BI2536, NMS-P937, BI 6727 (Volasertib), HMN-214 y MLN0905.

En realizaciones, el antibiótico de poliéter se selecciona de monensina de sodio, nigericina, valinomicina, salinomicina.

Una "composición farmacéutica" es una formulación que contiene los compuestos descritos en el presente documento en una forma farmacéuticamente aceptable adecuada para la administración a un sujeto. Como se usa en el presente documento, la frase "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones, portadores y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una proporción razonable de beneficio/riesgo.

"Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y ni biológicamente ni de otra manera indeseable, e incluye un excipiente que es aceptable para uso veterinario así como para uso farmacéutico en humanos. Los ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, líquidos estériles, agua, solución salina regulada, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido y similares), aceites, detergentes, agentes de suspensión, carbohidratos (por ejemplo, glucosa, lactosa, sacarosa o dextrano), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico o glutatión), agentes quelantes, proteínas de bajo peso molecular o mezclas adecuadas de los mismos.

Una composición farmacéutica se puede proporcionar a granel o en forma de unidad de dosificación. Es especialmente ventajoso formular composiciones farmacéuticas en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. El término "forma de unidad de dosificación" como se usa aquí se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación de las formas de unidad de dosificación de la invención está dictada por y dependen directamente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular que se quiere lograr. Una forma de unidad de dosificación puede ser una ampolla, un vial, un supositorio, una gragea, un comprimido, una cápsula, una bolsa intravenosa o un solo bombeo en un inhalador de aerosol.

En aplicaciones terapéuticas, las dosificaciones varían según el agente, la edad, peso y estado clínico del paciente receptor y la experiencia y el criterio del médico o profesional que administra la terapia, entre otros factores que afectan la dosificación seleccionada. En general, la dosis debe ser una cantidad terapéuticamente eficaz. Las dosificaciones se pueden proporcionar en unidades de medida de mg/kg/día (la dosis se puede ajustar para el peso del paciente en kg, el área de superficie corporal en m<sup>2</sup> y la edad en años). Una cantidad eficaz de una composición farmacéutica es aquella que proporciona una mejora objetivamente identificable según lo observado por el clínico u otro observador calificado. Por ejemplo, aliviar un síntoma de un trastorno, enfermedad o afección. Tal como se usa aquí, el término "manera eficaz de dosificación" se refiere a la cantidad de una composición farmacéutica para producir el efecto biológico deseado en un sujeto o célula.

Por ejemplo, la forma de unidad de dosificación puede comprender de 1 nanogramo a 2 miligramos, o de 0,1 miligramos a 2 gramos; o de 10 miligramos a 1 gramo, o de 50 miligramos a 500 miligramos o de 1 microgramo a 20 miligramos; o de 1 microgramo a 10 miligramos; o de 0,1 miligramos a 2 miligramos.

Las composiciones farmacéuticas pueden tomar cualquier forma adecuada (por ejemplo, líquidos, aerosoles, soluciones, inhalantes, rocíos, aspersores; o sólidos, polvos, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, parches y similares) para la administración por cualquier vía deseada (por ejemplo, pulmonar, inhalación, intranasal, oral, bucal, sublingual, parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intrapleural, intratecal, transdérmica, transmucosa, rectal y similares). Por ejemplo, una composición farmacéutica de la invención puede estar en forma de una solución acuosa o polvo para administración en aerosol por inhalación o insuflación (ya sea a través de la boca o la nariz), en forma de un comprimido o cápsula para administración oral; en forma de una solución o dispersión acuosa estéril adecuada para la administración mediante inyección directa o mediante adición a fluidos de infusión estériles para infusión intravenosa; o en forma de loción, crema, espuma, parche, suspensión, solución o supositorio para administración transdérmica o transmucosa.

Una composición farmacéutica puede estar en forma de una forma de dosificación aceptable por vía oral que incluye, pero no se limita a, cápsulas, tabletas, formas bucales, trociscos, pastillas y líquidos orales en forma de emulsiones, suspensiones acuosas, dispersiones o soluciones. Las cápsulas pueden contener mezclas de un compuesto de la presente invención con agentes de relleno inertes y/o diluyentes tales como los almidones farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, almidón de maíz, patata o tapioca), azúcares, agentes edulcorantes artificiales, celulosas en polvo, tales como celulosas cristalinas y microcristalinas, harinas, gelatinas, gomas, etc. En el caso de tabletas para uso oral, los portadores que se usan comúnmente incluyen lactosa y almidón de maíz. También se pueden agregar agentes lubricantes, como el estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando las suspensiones y/o emulsiones acuosas se administran por vía oral, el compuesto de la presente invención se puede suspender o disolver en una fase oleosa que se combina con agentes emulsionantes y/o suspensores. Si se desea, se pueden agregar ciertos agentes edulcorantes y/o saborizantes y/o colorantes.

Una composición farmacéutica puede estar en forma de un comprimido. El comprimido puede comprender una unidad de dosificación de un compuesto de la presente invención junto con un diluyente o portador inerte tal como un azúcar

o alcohol de azúcar, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol o manitol. El comprimido puede comprender además un diluyente no derivado de azúcar, tal como carbonato de sodio, fosfato de calcio, carbonato de calcio, o una celulosa o derivado de la misma, tal como metil celulosa, etil celulosa, hidroxipropil metil celulosa y almidones tales como almidón de maíz. El comprimido puede comprender además agentes de enlace y granulación tales como polivinilpirrolidona, desintegrantes (por ejemplo, polímeros entrecruzados hinchables, como la carboximetilcelulosa entrecruzada), agentes lubricantes (por ejemplo, estearatos), conservantes (por ejemplo, parabenos), antioxidantes (por ejemplo, BHT), agentes reguladores (por ejemplo, reguladores de fosfato o citrato) y agentes efervescentes tales como mezclas de citrato/bicarbonato.

El comprimido puede ser un comprimido recubierto. El recubrimiento puede ser un recubrimiento de película protectora (por ejemplo, una cera o barniz) o un recubrimiento diseñado para controlar la liberación del agente activo, por ejemplo, una liberación retardada (liberación del activo después de un desfase temporal predeterminado luego de la ingestión) o liberación en un sitio particular en el tracto gastrointestinal. Esto último se puede lograr, por ejemplo, utilizando recubrimientos de película entérica como los que se venden bajo la marca Eudragit®.

Las formulaciones de comprimidos se pueden hacer por compresión convencional, granulación húmeda o métodos de granulación en seco y utilizar diluyentes, agentes aglutinantes, lubricantes, desintegrantes, agentes modificadores de la superficie (incluidos los tensioactivos), agentes suspensores o estabilizantes, farmacéuticamente aceptables, incluidos, pero no limitados a, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, laurilsulfato de sodio, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa de calcio, polivinilpirrolidona, gelatina, ácido alginico, goma arábiga, goma de xantano, citrato de sodio, silicatos complejos, carbonato de calcio, glicina, dextrina, sacarosa, sorbitol, fosfato de dicalcio, sulfato de calcio, lactosa, caolín, manitol, cloruro de sodio, talco, almidones secos y azúcar en polvo. Los agentes modificadores de superficie preferidos incluyen agentes modificadores de superficie no iónicos y aniónicos. Los ejemplos representativos de agentes modificadores de la superficie incluyen, pero no se limitan a, poloxámero 188, cloruro de benzalconio, estearato de calcio, alcohol cetosteárico, cera emulsionante de cetomacrogol, ésteres de sorbitán, dióxido de silicio coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, silicato de aluminio magnesio y trietanolamina.

Una composición farmacéutica puede estar en forma de una cápsula de gelatina dura o blanda. De acuerdo con esta formulación, el compuesto de la presente invención puede estar en forma sólida, semisólida o líquida.

Una composición farmacéutica puede estar en la forma de una solución o dispersión acuosa estéril adecuada para administración parenteral. El término parenteral como se usa aquí incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intraarterial, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intralesional e intracraneal.

Una composición farmacéutica puede estar en forma de una solución o dispersión acuosa estéril adecuada para la administración mediante inyección directa o mediante la adición a fluidos de infusión estériles para infusión intravenosa y comprende un disolvente o medio de dispersión que contiene agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas adecuadas de los mismos, o uno o más aceites vegetales. Las soluciones o suspensiones del compuesto de la presente invención como una base libre o sal farmacológicamente aceptable se pueden preparar en agua adecuadamente mezclada con un tensioactivo. Los ejemplos de tensioactivos adecuados se dan a continuación. Las dispersiones también se pueden preparar, por ejemplo, en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de estos en aceites.

Las composiciones farmacéuticas para uso en los métodos de la presente invención pueden comprender además uno o más aditivos además de cualquier portador o diluyente (tal como lactosa o manitol) que está presente en la formulación. El uno o más aditivos pueden comprender o consistir en uno o más tensioactivos. Los tensioactivos típicamente tienen una o más cadenas alifáticas largas, como los ácidos grasos, lo que les permite insertarse directamente en las estructuras lipídicas de las células para potenciar la penetración y absorción del fármaco. Un parámetro empírico comúnmente utilizado para caracterizar la hidrofilia y la hidrofobia relativa de los tensioactivos es el balance hidrofílico-lipofílico (valor "HLB"). Los tensioactivos con valores más bajos de HLB son más hidrófobos y tienen mayor solubilidad en aceites, mientras que los tensioactivos con valores más altos de HLB son más hidrófilos y tienen mayor solubilidad en soluciones acuosas. Por lo tanto, generalmente se considera que los tensioactivos hidrófilos son aquellos compuestos que tienen un valor HLB mayor que aproximadamente 10, y los tensioactivos hidrófobos son generalmente aquellos que tienen un valor HLB menor que aproximadamente 10. Sin embargo, estos valores HLB son simplemente una guía ya que, para muchos tensioactivos, los valores HLB pueden diferir por tanto como aproximadamente 8 unidades HLB, dependiendo del método empírico elegido para determinar el valor HLB.

Entre los tensioactivos para uso en las composiciones de la invención se encuentran los ácidos grasos de polietilenglicol (PEG) y ácido graso de PEG mono y diésteres, los ésteres de PEG glicerol, los productos de transesterificación de alcohol-aceite, ácidos grasos de poliglicerilo, ésteres de ácido graso de propilenglicol y esterol y derivados de esterol, polietilenglicol sorbitán éteres de ácido graso, polietilenglicol alquil éteres, azúcar y sus derivados, polietilenglicol alquilfenoles, polioxietileno-polioxipropileno (POE-POP) copolímeros de bloque, ésteres de ácido graso de sorbitán, tensioactivos iónicos, vitaminas solubles en grasa y sus sales, vitaminas solubles en agua y sus derivados anfífilos, aminoácidos y sus sales y ácidos orgánicos y sus ésteres y anhídridos.

La divulgación también proporciona envases y kits que comprenden composiciones farmacéuticas para uso en los métodos descritos aquí. El kit puede comprender uno o más recipientes seleccionados del grupo que consiste en una botella, un vial, una ampolla, un blíster y una jeringa. El kit puede incluir además una o más instrucciones para su uso en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad, afección o trastorno de la presente invención, una o más jeringas, uno o más aplicadores, o una solución estéril adecuada para reconstituir una composición farmacéutica de la presente invención.

Todos los porcentajes y proporciones utilizados aquí, a menos que se indique lo contrario, están en peso. Otras características y ventajas de la presente invención son evidentes a partir de los diferentes ejemplos. Los ejemplos proporcionados ilustran diferentes componentes y metodologías útiles en la práctica de la presente invención. En base a la presente divulgación, la persona experimentada puede identificar y emplear otros componentes y metodologías útiles para poner en práctica la presente invención.

## Ejemplos

### Ejemplo 1: Actividad sinérgica entre apilimod y vemurafenib

Se utilizaron células Yulac614 (resistentes a vemurafenib, ver Choi et al. 2014) para realizar estudios de combinación de fármacos para identificar pares de fármacos sinérgicos. Se usó una biblioteca de 500 fármacos no aprobados para realizar cribado de fármacos en presencia o ausencia de vemurafenib (a  $IC_{20} = 6 \mu M$ ). La biblioteca de fármacos se diluyó desde una solución madre 10 mM hasta soluciones submadre de 5, 0,5 y 0,05 mM (concentración final 1.000x) para dar concentraciones de cribado finales de 5, 0,5 y 0,05  $\mu M$ .

30 nL de fármaco de la biblioteca (a una concentración de 1.000x) fueron sembrados en los pozos apropiados de una placa de pared negra 384 (Corning # 3712). Se prepararon placas sembradas con fármaco por duplicado y a estas se les agregaron células Yulac614 que fueron pretratadas con DMSO (0,01% final) o vemurafenib (6  $\mu M$  final). Las células Yulac614 se cultivaron en OptiMEM (Life Technologies) que contenía FBS al 5% (Sigma Aldrich F2442-500ML, Lote 12D370) penicilina/estreptomina (100X) (CellGro Ref 30-002). Se dispensaron 30  $\mu L$  de células por pozo utilizando un Multidrop Combi (Thermo Fisher Scientific) para obtener una densidad celular final de 2.000 células por pozo.

Las placas se incubaron durante 72 horas a 37 °C bajo una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% en una incubadora humidificada. La viabilidad celular se determinó con el ensayo de luminiscencia CellTiter-Glo® (Promega) según las instrucciones del fabricante. La viabilidad se expresó como un porcentaje de células de control (DMSO). La viabilidad del fármaco de biblioteca por sí solo se comparó con el fármaco de biblioteca + vemurafenib y se identificaron combinaciones significativas.

Apilimod se identificó como un fármaco no aprobado que, en combinación con vemurafenib, redujo significativamente la viabilidad celular de Yulac614 en comparación con cualquier fármaco por sí solo. Vea la Figura 1.

Para validar la observación de vemurafenib y apilimod, las células Yulac614 se sembraron en placas de 96 pozos a una densidad de 5.000 células por pozo en un volumen final de 50  $\mu L$ . Se probó el vemurafenib en una curva de respuesta de concentración de 10 puntos (58,6-30.000 nM; diluciones de 2 veces) en la presencia y ausencia de apilimod (a  $IC_{20} = 500$  nM). Se añadieron 50  $\mu L$  de la serie de dilución del fármaco de 10 puntos (a una concentración 2x) a las células. Las placas se incubaron a 37 °C bajo una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% en una incubadora humidificada. 72 horas después de la adición de compuesto, la viabilidad celular relativa se determinó mediante el ensayo de luminiscencia CellTiter-Glo® (Promega) según las instrucciones del fabricante, y los valores se expresaron como un porcentaje en relación con las células de control tratadas con vehículo (DMSO) (establecidas al 100%). La Figura 2 muestra una curva de respuesta de concentración de 10 puntos de vemurafenib (58,6-30.000 nM) solo (línea negra) o con apilimod (500nM) (línea gris). Los resultados demuestran que el apilimod en combinación con vemurafenib es más eficaz que el vemurafenib solo en la reducción de la viabilidad celular de las células Yulac614.

En otro experimento, Yulac (original-sensible a vemurafenib), Yulac 614, Yulac 616, Yulac T-CRAF (todos resistentes a vemurafenib), ver Choi et al. 2014) se cultivaron en OptiMEM (Life Technologies) que contenía FBS al 5% (Sigma Aldrich F2442-500ML, Lote 12D370) penicilina/estreptomina (100X) (CellGro Ref 30-002). Para los estudios de combinación, las células se sembraron a una densidad de 5.000 células por pozo en placas de 96 pozos en un volumen final de 50  $\mu L$ . Las células se trataron con apilimod solo (concentración final 13,7-30.000 nM; diluciones triples y un total de 8 diluciones), con vemurafenib solo (concentración final 13,7-30.000 nM; diluciones triples y un total de 8 diluciones) o la combinación de cada concentración de apilimod con cada concentración de vemurafenib (matriz 8x8). Las células se trataron durante 72 horas antes de evaluar la proliferación utilizando CellTiterGlo® (Promega). Para el cálculo de la sinergia, se utilizó CalcuSyn (versión 2.11, Biosoft) para determinar el índice de combinación (CI) según lo definido por Chou et al. (Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 1984; 22:27-55). Restringimos el análisis para evaluar los valores de CI que se encontraban dentro de una concentración clínicamente alcanzable y también donde el efecto de fracción (Fa) fue mayor que 0,70 (es decir, una reducción mayor del 70% en la viabilidad celular con la combinación de fármacos). Por lo tanto, las combinaciones de fármacos que producen valores de  $CI > 1$  son antagónicas,  $CI = 1$  son aditivas y  $CI < 1$  son sinérgicas. Usando esta metodología, se descubrió que apilimod actúa sinérgicamente con vemurafenib en cada una de estas líneas celulares (ver la Tabla 1). El cambio en la sensibilidad al vemurafenib por

apilimod se determinó utilizando el software GraphPad Prism4 para calcular los valores de IC50. Como se muestra en la Figura 3, vemurafenib en combinación con apilimod a 370 nM redujo la IC50 en 5,5 a 25 veces en comparación con vemurafenib por sí solo.

Tabla 1.

Línea celular	Concentración (nM) Vemurafenib/Apilimod	Fracción afectada	Índice de combinación (CI)
Yulac (original)	1.111/370	0,74	0,3
Yulac614	10.000/370	0,84	0,3
Yulac614	10.000/370	0,84	0,5
Yulac-CRAF	10.000/370	0,84	0,2

5

Para ampliar estos hallazgos, se eligió un panel de líneas celulares de melanoma que mostraban resistencia inherente a vemurafenib para un estudio adicional con apilimod. A101D, SK-MEL-2, SK-MEL-31, RPMI7951, A2058 (cultivados en DMEM suplementado con suero fetal bovino al 10%) y MEL-JUSO (cultivado en RPMI suplementado con suero fetal bovino al 10%) se obtuvieron células de ATCC. Las células se sembraron a una densidad óptima en placas de 96 pozos en un volumen final de 50  $\mu$ l. Las células se trataron con apilimod solo (78,1-10.000 nM final; diluciones dobles y un total de 8 diluciones), con vemurafenib solo (concentración final 234-30.000 nM; diluciones dobles y un total de 8 diluciones) o la combinación de cada concentración de apilimod con cada concentración de vemurafenib (matriz 8x8). Las células se trataron durante 72 horas antes de evaluar la proliferación utilizando CellTiterGlo® (Promega). Para el cálculo de la sinergia, se usó CalcuSyn (versión 2.11, Biosoft) para determinar el índice de combinación (CI) como se describe anteriormente. Usando esta metodología, se descubrió que apilimod actúa sinérgicamente con vemurafenib en cada línea celular (ver la Tabla 2). El cambio en la sensibilidad al vemurafenib por apilimod se determinó utilizando el software GraphPad Prism4 para calcular los valores de IC50. Como se muestra en la Figura 4, vemurafenib en combinación con apilimod a 185 nM (células A101D, RPMI7951, A2058 y MEL-JUSO) o 312 nM (SK-MEL-2 y SK-MEL-31) redujo el IC50 de 4,5 a 25 veces en comparación con vemurafenib por sí solo.

10

15

20

Tabla 2.

Línea celular	Concentración (nM) Vemurafenib/Apilimod	Fracción afectada	Índice de combinación (CI)
RPMI7951	3.750/185	0,71	0,18
MEL-JUSO	7.500/185	0,78	0,05
SK-MEL-2	15.000/312	0,72	0,1
SK-MEL-31	15.000/312	0,78	0,03
A101D	7.500/185	0,91	0,11
A2058	15.000/185	0,84	0,02

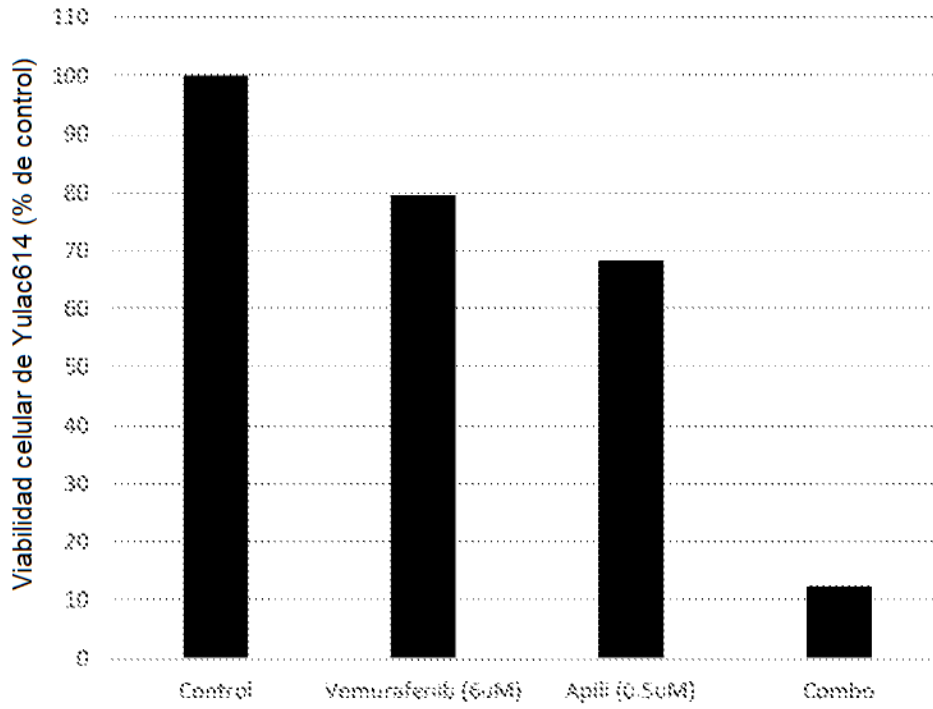
valores del índice de combinación (CI) para las líneas celulares resistentes a vemurafenib indicadas, tratadas con la combinación de vemurafenib y apilimod. Los valores de CI>1 son antagónicos, CI=1 son aditivos y CI<1 son sinérgicos.



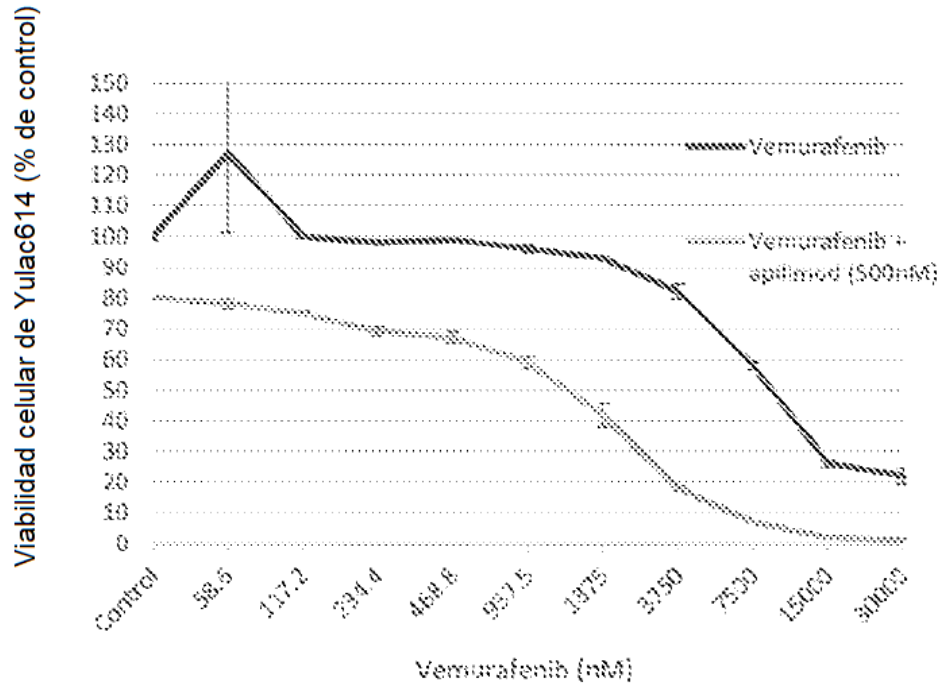
## REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de apilimod, o una de sus sales, solvatos, clatratos, hidratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, para uso en un método para tratar el melanoma en un sujeto que lo necesite.
- 5 2. La composición para el uso de la reivindicación 1, en donde el apilimod es dimesilato de apilimod.
3. La composición para el uso de la reivindicación 1 o 2, en donde la composición es una forma de dosificación oral o una forma de dosificación adecuada para administración intravenosa.
4. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el melanoma es un melanoma en estadio III o IV.
- 10 5. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el método comprende además administrar al menos un agente activo adicional, opcionalmente en donde el al menos un agente activo adicional es un agente terapéutico o un agente no terapéutico, o una combinación de estos.
6. La composición para el uso de la reivindicación 5, en donde al menos un agente activo adicional es un agente terapéutico, opcionalmente, en donde el agente terapéutico se selecciona de un inhibidor de la proteína quinasa, un agente antineoplásico a base de platino, un inhibidor de la topoisomerasa, un inhibidor metabólico de nucleósidos, un agente alquilante, un agente intercalante, un agente enlazador de tubulina, y combinaciones de estos,
- 15 además, opcionalmente, en donde el agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en dacarbazina, temozolomida, Nab-paclitaxel, carmustina, cisplatino, carboplatino, vinblastina, ipilimumab, interleucina-2 (IL-2, Proleukin™), pembrolizumab (Keytruda™), avelumab, atezolizumab (MPDL3280A), nivolumab (BMS-936558), pidilizumab (MK-3475), MSB0010718C, MED14736, adabrafenib (Tafinlar™), vemurafenib (Zelboraf™), trametinib (Mekinist™), dasatinib (Sprycel™), imatinib (Gleevec™) y nilotinib (Tasigna™) y sus combinaciones,
- 20 y preferiblemente en donde el agente terapéutico es vemurafenib.
7. La composición para el uso de la reivindicación 6, en donde el método comprende además administrar un agente no terapéutico seleccionado para mejorar uno o más efectos secundarios del apilimod.
- 25 8. La composición para el uso de la reivindicación 5, en donde al menos un agente adicional es un agente no terapéutico seleccionado para mejorar uno o más efectos secundarios del apilimod.
9. La composición para el uso de las reivindicaciones 7 u 8, en donde se selecciona el agente no terapéutico
- a) del grupo que consiste en ondansetrón, granisetron, dolasetron y palonosetrón, o
- b) del grupo que consiste en pindolol y risperidona.
- 30 10. La composición para el uso de la reivindicación 1, en donde la composición comprende dimesilato de apilimod y uno o más de un agente alquilante, un agente intercalante, un agente enlazador de tubulina y un inhibidor de BRAF,
- opcionalmente, en donde la composición comprende uno o más de dacarbazina, temozolomida, Nab-paclitaxel, carmustina, cisplatino, carboplatino, vinblastina, ipilimumab, pembrolizumab (Keytruda™) avelumab, atezolizumab (MPDL3280A), nivolumab (BMS-936558), pidilizumab (MK-3475), MSB0010718C, MED14736, Interleucina-2 (IL-2,
- 35 Proleukin™), dabrafenib (Tafinlar™), vemurafenib (Zelboraf™), trametinib (Mekinist™), dasatinib (Sprycel™), imatinib (Gleevec™) y nilotinib (Tasigna™)
- y además, opcionalmente, en donde la composición comprende vemurafenib.
11. La composición para el uso de la reivindicación 9, en donde la composición comprende además uno o más de ondansetrón, granisetron, dolasetron, palonosetrón, pindolol y risperidona.
- 40 12. La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el cáncer es un melanoma maligno o metastásico.
13. Un método para identificar a un paciente humano con melanoma para el tratamiento con una terapia de combinación que comprende apilimod y vemurafenib, el método que comprende analizar una muestra biológica del cáncer del sujeto para una o más de la mutación de la proteína V600E BRAF, la mutación de la proteína V600K BRAF, o los equivalentes genéticos de estos, en donde un sujeto que tiene cualquiera de estas mutaciones se identifica como un paciente para el tratamiento con una terapia de combinación que comprende apilimod y vemurafenib.
- 45

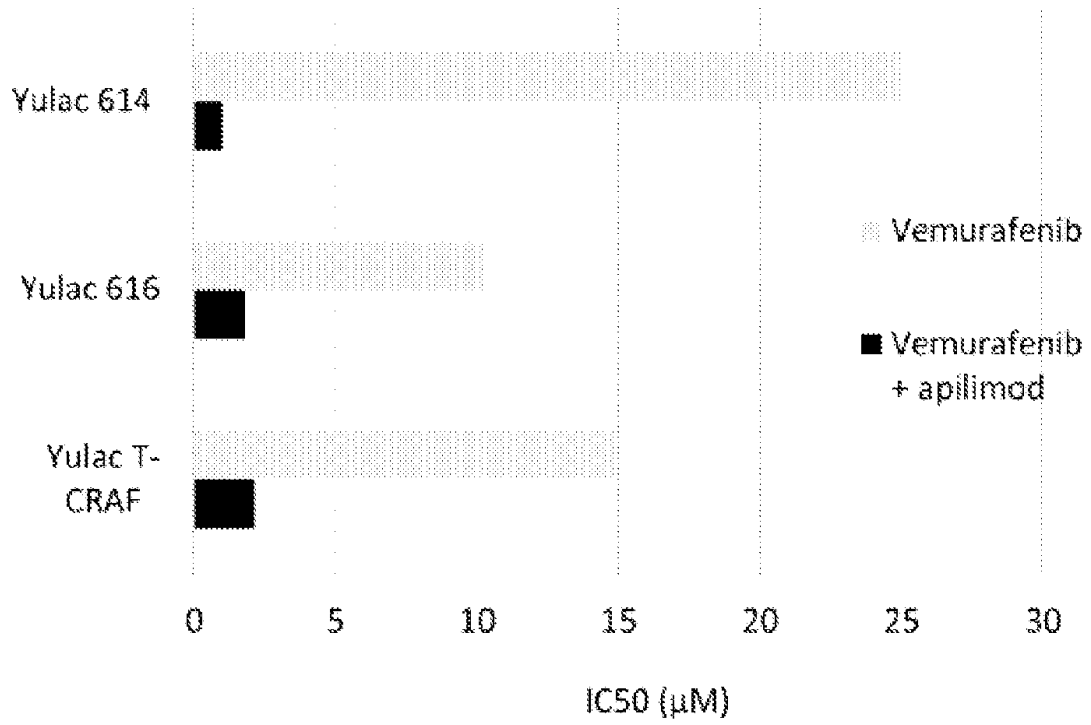
**FIG. 1**



**FIG. 2**



**FIG. 3**



**FIG. 4**

