

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 778 059**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/4184** (2006.01)

**A61K 31/506** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.07.2013 PCT/US2013/051990**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2014 WO14018725**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.07.2013 E 13745540 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2020 EP 2877174**

54 Título: **Combinaciones farmacéuticas de un inhibidor de CDK4/6 y un inhibidor de B-Raf**

30 Prioridad:

**26.07.2012 US 201261676134 P**  
**04.06.2013 US 201361830911 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.08.2020**

73 Titular/es:

**ARRAY BIOPHARMA, INC. (100.0%)**  
**3200 Walnut Street**  
**Boulder, CO 80301, US**

72 Inventor/es:

**CAPONIGRO, GIORDANO;**  
**STUART, DARRIN;**  
**KIM, SUNKYU;**  
**LOO, ALICE y**  
**DELACH, SCOTT**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 778 059 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**

Combinaciones farmacéuticas de un inhibidor de CDK4/6 y un inhibidor de B-Raf

5 Campo de la invención

Una combinación de un inhibidor de quinasa 4/6 dependiente de ciclina (CDK4/6), un inhibidor de quinasa B-Raf y opcionalmente un inhibidor de proteína quinasa quinasa activada por mitógeno (MEK 1/2 o MEK) que se usa para el tratamiento de enfermedades proliferativas. Esta invención también se refiere también a los usos de tal combinación en el tratamiento de enfermedades proliferativas; y a composiciones farmacéuticas de la combinación de agentes.

Antecedentes de la invención

15 El desarrollo tumoral está estrechamente asociado con la alteración genética y la desregulación de las quinasas dependientes de ciclina (CDK) y sus reguladores, lo que sugiere que los inhibidores de CDK pueden ser compuestos terapéuticos útiles contra el cáncer. La función de las CDK es fosforilar y así activar o desactivar ciertas proteínas. La etapa catalítica mediada por CDK implica una reacción de fosfo transferencia desde ATP al sustrato enzimático macromolecular. Se ha encontrado que varios grupos de compuestos (revisados en, por ejemplo, Fischer, P. M. Curr. Opin. Drug Discovery Dev. 2001, 4, 623-634) poseen propiedades antiproliferativas en virtud del antagonismo de ATP específico de CDK.

20 A nivel molecular, la mediación de la actividad del complejo CDK/ciclina requiere una serie de eventos de fosforilación o desfosforilación estimuladores e inhibidores. La fosforilación de CDK es realizada por un grupo de quinasas activadoras de CDK (CAK) y/o quinasas tales como Wee1, Myt1 y Mik1. La desfosforilación se realiza mediante fosfatasas tales como cdc25 (a & c), pp2a o KAP.

30 La actividad del complejo CDK/ciclina puede regularse adicionalmente por dos familias de inhibidores proteínicos celulares endógenos: la familia Kip/Cip, o la familia INK. Las proteínas INK se unen específicamente a CDK4 y CDK6. p16ink4 (también conocido como MTS1) es un gen supresor tumoral potencial que está mutado o eliminado en una gran cantidad de cánceres primarios. La familia Kip/Cip contiene proteínas tales como p21Cip1, Waf1, p27Kip1 y p57kip2, en las que p21 es inducido por p53 y es capaz de inactivar el complejo CDK2/ciclina (E/A). Se han observado niveles atípicamente bajos de expresión de p27 en los cánceres de mama, colon y próstata. Por el contrario, se ha demostrado que la sobreexpresión de ciclina E en tumores sólidos se correlaciona con un mal pronóstico del paciente. La sobreexpresión de ciclina D1 se ha asociado con carcinomas esofágico, de mama, escamoso y de pulmón de células no pequeñas.

40 Las funciones fundamentales de las CDK, y sus proteínas asociadas, en la coordinación y conducción del ciclo celular en las células en proliferación se han esbozado anteriormente. También se han descrito algunas de las rutas bioquímicas en las que las CDK juegan un papel clave. Por lo tanto, el desarrollo de monoterapias para el tratamiento de trastornos proliferativos, tales como cánceres, usando terapias dirigidas genéricamente a CDK o CDK específicas, es potencialmente altamente deseable. Por lo tanto, existe una necesidad continua de encontrar nuevos agentes terapéuticos para tratar enfermedades humanas. Los inhibidores de CDK4/6 útiles en las presentes combinaciones se divulgan de manera general y específica en la solicitud de patente PCT publicada WO2010/020675.

45 Las proteínas quinasas representan una gran familia de proteínas, que juegan un papel central en la regulación de una amplia variedad de procesos celulares y en el mantenimiento del control sobre la función celular. Se ha observado actividad aberrante de la quinasa en muchos estados patológicos, incluidos los trastornos proliferativos benignos y malignos, así como las enfermedades resultantes de la activación inapropiada del sistema inmunitario y nervioso.

50 La ruta de señalización Ras-Raf-MEK-ERK transmite señales desde los receptores de la superficie celular al núcleo y es esencial para la proliferación y supervivencia celular. Como el 10-20% de los cánceres humanos albergan la mutación Ras oncogénica y muchos cánceres humanos tienen receptores de factores de crecimiento activados, esta ruta es un objetivo ideal para la intervención.

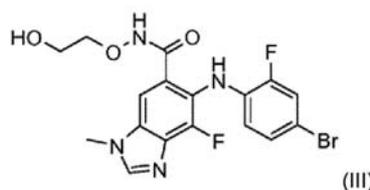
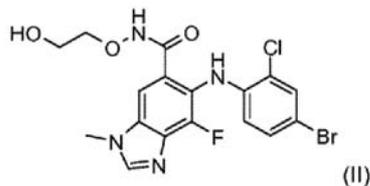
55 La familia Raf de serina/treonina quinasas incluye tres miembros: C-Raf (o Raf-1), B-Raf y A-Raf. Se han identificado alelos activadores de B-Raf en aproximadamente el 70% de los melanomas, el 40% del carcinoma papilar de tiroides, el 30% del carcinoma de ovario de bajo grado y el 10% de los cánceres colorrectales. La mayoría de las mutaciones de B-Raf se encuentran dentro del dominio de quinasa, con una única sustitución (V600E) que representa el 80%. Las proteínas B-Raf mutadas activan la ruta Raf-MEK-ERK a través de una actividad de quinasa elevada hacia MEK o mediante la activación de C-Raf. El inhibidor de B-Raf en la presente terapia de combinación inhibe los procesos celulares que involucran a la quinasa B-Raf al bloquear la cascada de señales en estas células cancerosas y finalmente inducir la estasis y/o la muerte de las células. Los inhibidores de B-Raf útiles en las presentes combinaciones se divulgan de manera general y específica en la solicitud de patente PCT publicada WO2011/025927.

65 MEK es también una proteína principal en la ruta RAS/RAF/MEK/ERK, que señala hacia la proliferación y supervivencia celular, y con frecuencia se activa en tumores que tienen mutaciones en los oncogenes RAS o RAF o

en receptores de crecimiento tirosina quinasas. A pesar de que rara vez muta en el cáncer, los inhibidores de las proteínas MEK1 y MEK2 también se han dirigido a la inhibición de moléculas pequeñas debido a su posición central dentro de la cascada de señalización de la ruta de transducción de señales RAS/RAF/MEK.

5 Los inhibidores de MEK 1/2 opcionales apropiados para uso en las presentes combinaciones son conocidos en la técnica. Los inhibidores de MEK 1/2 útiles en la presente invención incluyen PD325901, PD-181461, ARRY142886/AZD6244, ARRY-509, XL518, JTP-74057, AS-701255, AS-701173, AZD8330, ARRY162, ARRY300, RDEA436, E6201, RO4987655/R-7167, GSK1120212 o AS703026.

10 En una realización importante, los inhibidores de MEK 1/2 incluyen compuestos descritos en el documento WO03/077914, en particular un compuesto de fórmula (II) o (III).



15 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos (en lo sucesivo, denominados como Compuestos C y D, respectivamente) y los compuestos descritos en los documentos WO05/051906, WO05/023251, WO03/077855, US20050049419 y US7235537 que cubren bencimidazoles alquilados en N3 y otros derivados heterocíclicos similares como inhibidores de MEK 1/2 para el tratamiento de enfermedades proliferativas.

20 Huillard, E., et al., 2012, (Proceedings of the National Academy of Sciences, 109 (22), 8710-8715) divulga resultados preliminares de la combinación del inhibidor de B-Raf V600E PLX4720 y el inhibidor específico de CDK4/6 PD0332991 como un enfoque para proporcionar tratamiento a un subconjunto de pacientes pediátricos que tienen astrocitomas.

25 El documento WO 2005/094830 A1 divulga la combinación del inhibidor de CDK4/6 PD0332991 y el inhibidor de MEK N-[(R)-2,3-dihidroxi-propoxi]-3,4-difluoro-2-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-benzamida en un modelo de ratón de carcinoma de colon.

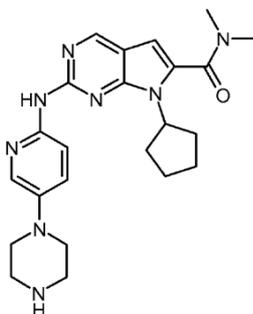
30 Zhao, Y., et al., 2008, (Biochemical and biophysical research communications, 370 (3), 509-513) divulga que la inactivación simultánea de BRAF y la expresión de INK4A en células de melanoma conduce a una potente inhibición del crecimiento y apoptosis.

Tortelli, TC, et al., 2012 (Cancer Research, 72 (Suplemento 8), 5598) divulga que una combinación del inhibidor de B-Raf PLX4720 y un inhibidor de CDK4/6 (olomucina o roscovitina) sensibiliza la línea celular de melanoma B Raf V600E mutada (SKMel 28).

35 Sumario de la invención

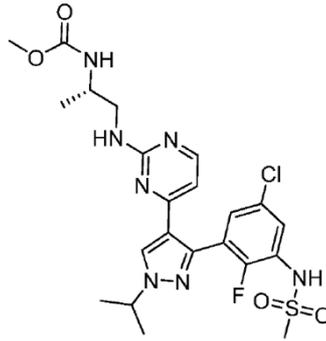
La presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende:

40 (a) un inhibidor de CDK4/6 de la fórmula



45 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (en adelante denominado como el Compuesto A),

(b) un inhibidor de B-Raf de la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (en adelante denominado como el Compuesto B), y

5 (c) opcionalmente un inhibidor de MEK 1/2.

En lo sucesivo, las combinaciones del Compuesto A y el Compuesto B y la combinación triple del Compuesto A, el Compuesto B y un inhibidor de MEK 1/2 se denominarán COMBINACIÓN DE LA INVENCION.

10 La presente invención se refiere particularmente a una COMBINACIÓN DE LA INVENCION útil para la administración separada, simultánea o secuencial a un sujeto que la necesita para tratar o prevenir una enfermedad proliferativa.

La presente invención también se refiere a una COMBINACIÓN DE LA INVENCION para su uso en el tratamiento o

15 prevención de una enfermedad proliferativa en un sujeto que la necesita.  
La presente invención proporciona además un envase comercial que comprende como agentes terapéuticos una COMBINACIÓN DE LA INVENCION, junto con instrucciones para la administración simultánea, separada o secuencial de la misma para su uso en el retraso de la progresión o el tratamiento de una enfermedad proliferativa.

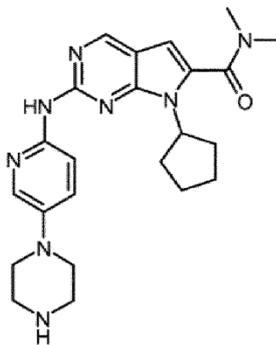
20 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una representación gráfica de los resultados obtenidos del Ejemplo 2 que demuestran una mayor durabilidad de la respuesta para la COMBINACIÓN DE LA INVENCION.

25 Descripción detallada de la invención

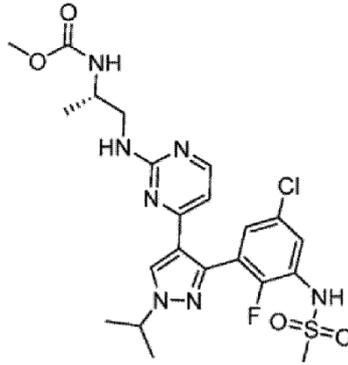
La presente invención se refiere a una combinación terapéutica que comprende:

30 (a) un inhibidor de CDK4/6 de la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

35 (b) un inhibidor de B-Raf de la fórmula

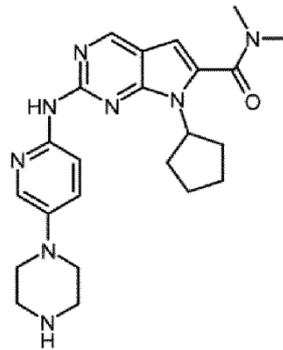


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 La presente invención se refiere además a una combinación triple farmacéutica que comprende además un inhibidor de MEK 1/2.

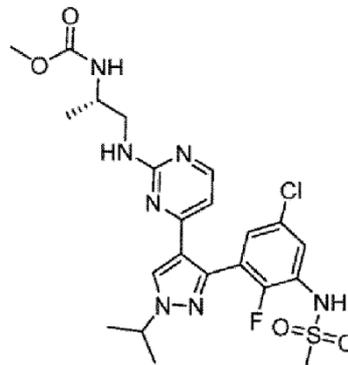
Por lo tanto, la presente invención se refiere además a una combinación terapéutica que comprende:

10 (a) un inhibidor de CDK4/6 de la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

15 (b) un inhibidor de B-Raf de la fórmula



20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

(c) un inhibidor de MEK 1/2.

25 En una realización importante de este aspecto de la invención, el inhibidor de MEK 1/2 es el Compuesto C o el Compuesto D, particularmente el Compuesto D, o sus sales farmacéuticamente aceptables.

La COMBINACIÓN DE LA INVENCION es, en particular, para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad proliferativa.

Los términos generales utilizados en este documento se definen con los siguientes significados, a menos que se indique explícitamente lo contrario:

Los términos "que comprende" e "que incluye" se usan en este documento en su sentido abierto y no limitativo, a menos que se indique lo contrario.

5 Los términos "un" y "uno, una" y "el, la" y referencias similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) deben interpretarse para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o claramente se contradiga por el contexto. Cuando la forma plural se usa para compuestos, sales y similares, se toma para significar también un único compuesto, sal o similar.

10 El término "combinación", "combinación terapéutica" o "combinación farmacéutica", como se usa en el presente documento, define una combinación fija en una forma de unidad de dosificación o un kit de partes para la administración combinada en la que el Compuesto A y el Compuesto B (y opcionalmente, un inhibidor de MEK 1/2) puede administrarse independientemente al mismo tiempo o por separado dentro de intervalos de tiempo que permitan que los compañeros de combinación muestren un efecto cooperativo, por ejemplo, sinérgico.

15 El término "composición farmacéutica" se define en el presente documento para referirse a una mezcla o solución que contiene al menos un agente terapéutico para administrar a un sujeto, por ejemplo, un mamífero o humano, para prevenir o tratar una enfermedad o afección particular afectando al mamífero.

20 El término "farmacéuticamente aceptable" se define en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación, que son, dentro del alcance del buen juicio médico, adecuados para el contacto con los tejidos de un sujeto, por ejemplo, un mamífero o humano, sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica y otras complicaciones problemáticas proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable.

25 El término "una preparación combinada" se define en el presente documento para referirse especialmente a un "kit de partes" en el sentido de que los compañeros de combinación (a) y (b) y opcionalmente (c), como se definió anteriormente, se pueden dosificar independientemente o mediante el uso de diferentes combinaciones fijas con cantidades distinguidas de los compañeros de combinación, es decir, simultáneamente o en diferentes puntos de tiempo. Las partes del kit de partes pueden, por ejemplo, administrarse simultáneamente o escalonadas cronológicamente, es decir, en diferentes puntos de tiempo y con intervalos de tiempo iguales o diferentes para cualquier parte del kit de partes. La proporción de las cantidades totales del compañero de combinación (a) con respecto al compañero de combinación (b) (y si corresponde con respecto al compañero de combinación (c)) que se administrará en la preparación combinada puede variarse, por ejemplo, para hacer frente a las necesidades de una subpoblación de pacientes a tratar o las necesidades de un solo paciente.

30 El término "coadministración" o "administración combinada" como se usa en el presente documento se define para abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo paciente, y está destinado a incluir regímenes de tratamiento en los que los agentes no son necesariamente administrados por la misma ruta de administración o al mismo tiempo.

35 El término "tratar" o "tratamiento" como se usa en el presente documento comprende un tratamiento que alivia, reduce o mejora al menos un síntoma en un sujeto o que afecta un retraso de la progresión de una enfermedad. Por ejemplo, el tratamiento puede ser la disminución de uno o varios síntomas de un trastorno o la erradicación completa de un trastorno, tal como cáncer. En el sentido de la presente invención, el término "tratar" también denota detener, retrasar el inicio (es decir, el período anterior a la manifestación clínica de una enfermedad) y/o reducir el riesgo de desarrollar o empeorar una enfermedad. El término "proteger" se usa en el presente documento para significar prevenir, retrasar o tratar, o todos, según corresponda, el desarrollo o la continuación o agravamiento de una enfermedad en un sujeto.

40 El término "combinación terapéuticamente activa" o "efecto terapéutico combinado" significa que los agentes terapéuticos pueden administrarse por separado (de manera escalonada cronológicamente, especialmente de una manera específica de secuencia) en los intervalos de tiempo que se prefieran, en el animal de sangre caliente, especialmente un humano, que va a ser tratado, que aún muestran una interacción (preferiblemente sinérgica) (efecto terapéutico combinado). Si este es el caso puede, entre otras cosas, determinarse siguiendo los niveles en sangre, que muestran que ambos compuestos están presentes en la sangre del humano que va a ser tratado al menos durante ciertos intervalos de tiempo.

45 El término "cantidad farmacéuticamente efectiva" o "cantidad clínicamente efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva" de una combinación de agentes terapéuticos es una cantidad suficiente para proporcionar una mejora observable sobre los signos y síntomas clínicamente observables iniciales del trastorno tratado con la combinación.

50 El término "sujeto" o "paciente", como se usa en el presente documento, incluye animales que pueden sufrir o padecer un cáncer o cualquier trastorno que implique, directa o indirectamente, un cáncer. Los ejemplos de sujetos incluyen mamíferos, por ejemplo, humanos, perros, vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, gatos, ratones, conejos, ratas y

animales no humanos transgénicos. En la realización preferida, el sujeto es un ser humano, por ejemplo, un ser humano que padece, está en riesgo de sufrir o es potencialmente susceptible de sufrir de cánceres.

5 El término "alrededor" o "aproximadamente" tendrá el significado dentro del 10%, más preferiblemente dentro del 5%, de un valor o intervalo dado.

El Compuesto A y/o el Compuesto B y/o el inhibidor de MEK 1/2 opcional se pueden administrar en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

10 Una "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, incluye sales de grupos ácidos y básicos que pueden estar presentes en los compuestos de la presente invención. Los compuestos de la presente invención que son de naturaleza básica son capaces de formar una amplia variedad de sales con diversos ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ácidos que se pueden usar para preparar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de tales compuestos básicos de la presente invención son aquellas que  
15 forman sales de adición de ácido no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacéuticamente aceptables, tales como las sales de acetato, benzoato, bromuro, cloruro, citrato, fumarato, bromhidrato, clorhidrato, yoduro, lactato, maleato, mandelato, nitrato, oxalato, salicilato, succinato y tartrato.

20 A menos que se especifique lo contrario, o se indique claramente en el texto, la referencia a agentes terapéuticos útiles en la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN incluye tanto la base libre de los compuestos como todas las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos.

La presente invención también se refiere a una combinación tal como una preparación combinada o una composición farmacéutica que comprende (a) el Compuesto A y (b) el Compuesto B y opcionalmente el Compuesto D.

25 La presente invención se refiere particularmente a una COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN útil para tratar o prevenir una enfermedad proliferativa en un sujeto que la necesita. En esta realización de la presente invención, la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN se usa para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que comprende administrar al sujeto una terapia de combinación, que comprende una cantidad efectiva de un inhibidor de CDK4/6  
30 seleccionado del COMPUESTO A y una cantidad efectiva de un inhibidor de B-Raf seleccionado del Compuesto B y opcionalmente una cantidad efectiva de un inhibidor de MEK 1/2, especialmente un inhibidor de MEK 1/2 seleccionado del Compuesto D. Preferiblemente, estos inhibidores se administran en dosis terapéuticamente efectivas que, cuando se combinan, proporcionan un efecto beneficioso. La administración puede ser separada, simultánea o secuencial.

35 En una realización, la enfermedad proliferativa es cáncer. El término "cáncer" se usa en el presente documento para significar un amplio espectro de tumores, incluidos todos los tumores sólidos y neoplasias hematológicas. Los ejemplos de tales tumores incluyen, pero no se limitan a, tumores benignos o malignos del cerebro, pulmón (en particular, cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas), células escamosas, vejiga, gástrico, pancreático, mama, cabeza y cuello, renal, de riñón, uréter, ovario, próstata, colorrectal, esofágico, testicular, ginecológico (por ejemplo, sarcomas uterinos, carcinoma de las trompas de Falopio, endometrio, cuello uterino, vagina o vulva), tiroides, pancreático, hueso, piel, melanoma, uterino, ovario, rectal, anal, colon, testicular, enfermedad de Hodgkin, esofágico, intestino delgado, sistema endocrino (por ejemplo, glándulas tiroidea, paratiroidea o suprarrenal),  
40 sarcomas de tejidos blandos, uretra, pene, leucemia, linfomas, neoplasias del sistema nervioso central, sarcomas, mieloma, biliar, hígado, neurofibromatosis, leucemia mielógena aguda (LMA), síndromes mielodisplásicos (SMD) y  
45 sarcoma de Kaposi.

En una realización adicional de la presente invención, la enfermedad proliferativa es melanoma, cáncer de pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP)), cáncer colorrectal (CRC), cáncer de mama, cáncer de riñón tal como, por ejemplo, carcinoma de células renales (RCC), cáncer de hígado, cáncer de endometrio, leucemia mielógena aguda (LMA), síndromes mielodisplásicos (SMD), cáncer de tiroides, particularmente cáncer papilar de tiroides, cáncer de páncreas, neurofibromatosis o carcinoma hepatocelular.

50 En una realización adicional de la presente invención, la enfermedad proliferativa es un tumor sólido. El término "tumor sólido" significa especialmente melanoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer colorrectal y, en general, del tracto gastrointestinal, cáncer de cuello uterino, cáncer de pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer de próstata o sarcoma de Kaposi. La presente combinación inhibe el crecimiento de tumores sólidos y también tumores líquidos. Además, dependiendo del tipo de tumor y de la combinación particular utilizada, se puede obtener una disminución del volumen del tumor. La COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN divulgada en el presente documento también es  
55 adecuada para prevenir la propagación metastásica de tumores y el crecimiento o desarrollo de micrometástasis. La COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN divulgada en el presente documento es adecuada para el tratamiento de pacientes con mal pronóstico, especialmente tales pacientes con mal pronóstico que tienen melanoma metastásico, cáncer colorrectal o pancreático.

60 En una realización adicional, la enfermedad proliferativa es melanoma o cáncer colorrectal.

65

La COMBINACIÓN DE LA INVENCION es particularmente útil para el tratamiento de cánceres que tienen una alteración genética en la ruta de transducción de señales RAS/RAF/MEK, tal como, por ejemplo, una mutación de B-Raf o amplificación génica.

5 En una realización importante, el cáncer a tratar se caracteriza por una mutación de B-Raf, por ejemplo, cáncer colorrectal de B-Raf mutado y melanoma de B-Raf mutado. En particular, la mutación de B-Raf es una mutación V600, por ejemplo, una mutación V600E, V600K o V600G.

10 La naturaleza de las enfermedades proliferativas es multifactorial. Bajo ciertas circunstancias, se pueden combinar medicamentos con diferentes mecanismos de acción. Sin embargo, solo considerar cualquier combinación de agentes terapéuticos que tengan un modo de acción diferente no necesariamente conduce a combinaciones con efectos ventajosos.

15 La administración de una COMBINACIÓN FARMACÉUTICA DE LA INVENCION puede dar como resultado no solo un efecto beneficioso, por ejemplo, un efecto terapéutico sinérgico, por ejemplo, con respecto al alivio, el retraso de la progresión o la inhibición de los síntomas, sino también en otros efectos beneficiosos sorprendentes, por ejemplo, menos efectos secundarios, una respuesta más duradera, una mejor calidad de vida o una disminución de la morbilidad, en comparación con una monoterapia que aplica solo uno de los agentes farmacéuticamente terapéuticos utilizados en la combinación de la invención.

20 Un beneficio adicional es que se pueden usar dosis más bajas de los agentes terapéuticos de la COMBINACIÓN DE LA INVENCION, por ejemplo, de modo que las dosis no solo pueden ser a menudo más pequeñas, sino que también se pueden aplicar con menos frecuencia, o pueden usarse para disminuir la incidencia de efectos secundarios observados solo con uno de los compañeros de combinación. Esto está de acuerdo con los deseos y requisitos de los  
25 pacientes a ser tratados.

Mediante modelos de prueba establecidos, se puede demostrar que una COMBINACIÓN DE LA INVENCION da como resultado efectos beneficiosos descritos anteriormente en el presente documento. El experto en la materia está totalmente capacitado para seleccionar un modelo de prueba relevante para probar tales efectos beneficiosos. La actividad farmacológica de una COMBINACIÓN DE LA INVENCION puede, por ejemplo, demostrarse en un estudio  
30 clínico o en un modelo animal como se describe esencialmente a continuación.

Al determinar una interacción sinérgica entre uno o más componentes, el intervalo óptimo del efecto y los intervalos de dosis absoluta de cada componente para el efecto pueden medirse definitivamente mediante la administración de  
35 los componentes en diferentes intervalos de relación p/p y dosis a pacientes que requieran del tratamiento. Para los humanos, la complejidad y el costo de llevar a cabo estudios clínicos en pacientes pueden hacer poco práctico el uso de esta forma de prueba como modelo primario para la sinergia. Sin embargo, la observación de sinergia en una especie puede predecir el efecto en otras especies y existen modelos animales, como se divulga en el presente documento, para medir un efecto sinérgico y los resultados de tales estudios también se pueden usar para predecir  
40 intervalos de relación de dosis efectivos y dosis absolutas y concentraciones plasmáticas requeridas en otras especies mediante la aplicación de métodos farmacocinéticos/farmacodinámicos. Las correlaciones establecidas entre los modelos tumorales y los efectos observados en el hombre sugieren que los modelos de xenoinjerto pueden demostrar sinergia en los animales.

45 En un aspecto, la presente invención proporciona una combinación sinérgica para administración en humanos que comprende (a) el Compuesto A y (b) el Compuesto B, en un intervalo de combinación (p/p) que corresponde a los intervalos observados en un modelo de tumor. Adecuadamente, el intervalo de relación en humanos corresponde a un intervalo en no humano seleccionado entre 50:1 a 1:50 partes en peso.

50 De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención proporciona una combinación sinérgica para la administración a humanos que comprende el Compuesto A y el Compuesto B, en la que el intervalo de dosis de cada componente corresponde a los intervalos sinérgicos sugeridos en un modelo de tumor o estudio clínico adecuado. En general, el compuesto A se administra en una dosis en el intervalo de 10 mg a 2000 mg por día, y el compuesto B se administra en una dosis en el intervalo de 10 mg a 1000 mg por día, por ejemplo 50 mg a 600 mg por día.

55 En la COMBINACIÓN DE LA INVENCION, el Compuesto A se administra preferiblemente a una dosis de 100 a 900 mg/día, preferiblemente de 200 a 900 mg/día, por ejemplo, 200, 400, 700 o 900 mg/día; el compuesto B se administra preferiblemente a una dosis de 150 a 600 mg/día, preferiblemente de 400 a 600 mg/día, particularmente 450 o 600 mg/día; y, como el inhibidor opcional de MEK 1/2, el Compuesto D se administra a una dosis de 15 a 150 mg/día,  
60 preferiblemente se administra dos veces al día, por ejemplo, 15 a 60 mg dos veces al día, por ejemplo, 45 mg dos veces al día.

Un objetivo de esta invención es proporcionar una composición farmacéutica, que comprenda la COMBINACIÓN DE LA INVENCION que es una combinación terapéuticamente efectiva contra una enfermedad proliferativa. En esta  
65 composición, los compañeros de combinación pueden administrarse en una formulación única o en una forma de

dosificación unitaria, administrada de manera concurrente pero por separado, o administrada secuencialmente por cualquier ruta adecuada. La forma de dosificación unitaria también puede ser una combinación fija.

5 Las composiciones farmacéuticas para la administración separada de los compañeros de combinación, o para la administración en una combinación fija, es decir, una composición galénica única que comprende la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN, pueden prepararse de una manera ya conocida y son aquellas adecuadas para la administración enteral, tal como la administración oral o rectal, y parenteral en mamíferos (animales de sangre caliente), incluidos los humanos, que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un solo compañero de combinación farmacológicamente activo, por ejemplo, como se indicó anteriormente, o en combinación con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, especialmente adecuados para aplicación enteral o parenteral.

La nueva composición farmacéutica puede contener, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 99,9%, preferiblemente de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 60%, del agente o agentes terapéuticos.

15 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la terapia de combinación para administración enteral o parenteral son, por ejemplo, aquellas en formas de dosificación unitarias, tales como tabletas recubiertas con azúcar, tabletas, cápsulas o supositorios, o ampollas. Si no se indica lo contrario, estas se preparan de una manera ya conocida, por ejemplo, por medio de diversas técnicas convencionales de mezcla, trituración, compresión directa, granulación, recubrimiento de azúcar, disolución, liofilización, granulación por fusión o fabricación fácilmente evidentes para aquellos experto en la técnica. Se apreciará que el contenido unitario de un compañero de combinación contenido en una dosis individual de cada forma de dosificación no necesita constituir en sí misma una cantidad efectiva ya que la cantidad efectiva necesaria puede alcanzarse mediante la administración de una pluralidad de unidades de dosificación.

25 De acuerdo con la presente invención, una cantidad terapéuticamente efectiva de cada uno de los compañeros de combinación de la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN puede administrarse simultáneamente o secuencialmente y en cualquier orden, y los componentes pueden administrarse por separado o como una combinación fija. Por ejemplo, el uso de acuerdo con la invención puede comprender (i) administración del agente (a) en forma libre o de una sal farmacéuticamente aceptable y (ii) administración del agente (b) en forma libre o de una sal farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente el agente (c) en forma libre o de una sal farmacéuticamente aceptable, simultánea o secuencialmente en cualquier orden, en cantidades de una combinación terapéuticamente efectiva, preferiblemente en cantidades sinérgicamente efectivas, 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 diferentes momentos durante el transcurso de la terapia o simultáneamente en formas de combinación divididas o únicas. Por lo tanto, debe entenderse que la invención abarca todos estos regímenes de tratamiento simultáneo o alternante y el término "administrar" debe interpretarse en consecuencia.

40 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 composición farmacéutica empleada, el modo de administración, la afección a tratar y la gravedad de la afección a tratar. Por lo tanto, el régimen de dosificación de la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN se selecciona de acuerdo con una variedad de factores que incluyen la ruta de administración y la función renal y hepática del paciente.

45 Las relaciones óptimas, las dosis individuales y combinadas, y las concentraciones de los compañeros de combinación (a) y (b) de la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN que producen eficacia sin toxicidad se basan en la cinética de la disponibilidad de los agentes terapéuticos para los sitios objetivo, y se determinan utilizando métodos conocidos por los expertos en la materia.

50 La dosificación efectiva de cada uno de los compañeros de combinación puede requerir la administración más frecuente de uno de el o los compuestos en comparación con el otro u otros compuestos en la combinación. Por lo tanto, para permitir una dosificación adecuada, los productos farmacéuticos envasados pueden contener una o más formas de dosificación que contienen la combinación de compuestos, y una o más formas de dosificación que contienen uno de la combinación de compuestos, pero no el o los otros compuestos de la combinación.

55 Cuando los compañeros de combinación, que se emplean en la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN, se aplican en la forma comercializada como fármacos individuales, su dosificación y modo de administración pueden estar de acuerdo con la información proporcionada en el prospecto del envase del respectivo medicamento comercializado, si no se menciona otra cosa en el presente documento.

60 La dosificación óptima de cada compañero de combinación para el tratamiento de una enfermedad proliferativa se puede determinar empíricamente para cada individuo usando métodos conocidos y dependerá de una variedad de factores, que incluyen, aunque no se limitan a, el grado de avance de la enfermedad; la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el género y la dieta del individuo; el tiempo y la ruta de administración; y otros medicamentos que el individuo está tomando. Las dosis óptimas se pueden establecer usando pruebas y procedimientos de rutina que son bien conocidos en la técnica.

La cantidad de cada compañero de combinación que puede combinarse con los materiales portadores para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del individuo tratado y el modo particular de administración. En algunas realizaciones, las formas de dosificación unitarias que contienen la combinación de agentes como se describe en el presente documento contendrán las cantidades de cada agente de la combinación que se administran típicamente cuando los agentes se administran solos.

La frecuencia de dosificación puede variar dependiendo del compuesto utilizado y la condición particular a tratar o prevenir. En general, se puede controlar la efectividad terapéutica para los pacientes utilizando ensayos adecuados para la afección que se está tratando o previniendo, lo que será familiar para los expertos en la materia.

La presente invención se refiere además a la COMBINACIÓN DE LA INVENCION para su uso en el tratamiento de una enfermedad proliferativa, particularmente cáncer.

La presente invención proporciona además un envase comercial que comprende como agentes terapéuticos la COMBINACIÓN DE LA INVENCION, junto con instrucciones para la administración simultánea, separada o secuencial de la misma para su uso en el retraso de la progresión o el tratamiento de una enfermedad proliferativa en un sujeto que lo necesite.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención descrita anteriormente; sin embargo, no están destinados a limitar el alcance de la invención de ninguna manera. Los efectos beneficiosos de la combinación farmacéutica de la presente invención también pueden determinarse mediante otros modelos de prueba conocidos como tales por la persona experta en la técnica pertinente.

Ejemplo 1

Evaluar la sensibilidad del Compuesto A y la eficacia de la combinación de los Compuestos A y B en xenoinjertos de melanoma humano primario HMEX1906 sensible al Compuesto B. Dado que cada agente indujo estasis o regresión tumoral en estudios previos, el objetivo del estudio actual es investigar el tiempo de regeneración después del tratamiento con la COMBINACIÓN DE LA INVENCION.

Los tumores se cortan/pican en la línea celular como una suspensión (tumores homogeneizados). Se añadieron 7 mL de Matrigel y 1,5 mL de HBSS. La suspensión se calentó en la palma de la mano hasta que el Matrigel se volvió más denso y se implantó con una aguja de 18G en forma sc en el costado derecho de ratones desnudos hembra. El tratamiento se inicia 16 días después del implante.

Formulación # 1: 0,5% de metilcelulosa
Formulación # 2: Compuesto A en 0,5% de metilcelulosa
Formulación # 3: Compuesto B en 0,5% de carboximetilcelulosa + 0,5% de Tween80 (CMC + T80)

Grupo	Ratón	Terapia	Ruta	Programación	Dosis (mg/kg)	Punto de tiempo (horas después de la dosis final)
1	7	vehículo	PO	una vez al día	--	-PD
2	7	Compuesto A	PO	una vez al día	150	4 horas PD
3	7	Compuesto A	PO	una vez al día	250	4 horas PD
4	7	Compuesto B	PO	dos veces al día	3	4 horas PD
5	7	Compuesto A + Compuesto B	PO	una vez al día / dos veces al día	250 + 3	4 horas PD

	Vehículo	Compuesto A [150 mg/kg]	Compuesto A [250 mg/kg]	Compuesto B [3 mg/kg]	Combinación A (250 mg/kg) y B (3 mg/kg)
Actividad antitumoral [día 46]	-	T/C= 7%	76% de reg.	57% de reg.	91% de reg
Regresiones completas totales [día 59]	-	-	0/7 [0%]	1/7 [14%]	5/7 [71%]
Supervivencia media [detención de la dosificación el día 59]	39	-	78	88	99

El compuesto A muestra una actividad antitumoral significativa en el modelo de xenoinjerto HMEX1906 mutante B-Raf con estasis T/C = 7% a razón de 150 mg/kg, una vez al día y 76% de regresión a razón de 250 mg/kg, dosis una vez al día. El compuesto B muestra una regresión del 57% a razón de 3 mg/kg, dosis dos veces al día. La COMBINACIÓN DE LA INVENCION muestra una regresión del 91% en el día 46 de estudio [31 días de dosificación].

El grupo con vehículo y el Compuesto A como único agente [150 mg/kg] se dosificaron durante 31 días y se terminaron después de la última dosis. El compuesto A [250 mg/kg], el Compuesto B como único agente y la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN se dosificaron durante 45 días y se monitorizó el retraso del crecimiento tumoral después de la última dosis [día 59 del estudio].

5 No se observó pérdida significativa de peso corporal en animales tratados.

Ejemplo 2

10 Objetivo: evaluar la durabilidad de la respuesta al Compuesto A, al Compuesto B y la combinación de los Compuestos A y B en xenoinjertos de melanoma humano primario HMEX2613 (mutante B-Raf). El objetivo del presente estudio es investigar el tiempo de regeneración hasta 500 mm<sup>3</sup> después del tratamiento con agentes únicos y con la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN.

15 Las xenoinjertos tumorales se implantaron en ratones hembra desnudos de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1. El tratamiento se inicia 19 días después del implante y se continúa durante 11 días en los grupos a los que se les administró vehículo y Compuesto A como único agente, o 18 días en los grupos dosificados con el Compuesto B como único agente y la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN.

Formulación # 1: 0,5% de metilcelulosa
Formulación # 2: Compuesto A en 0,5% de metilcelulosa
Formulación # 3: Compuesto B en 0,5% de carboximetilcelulosa/0,5% de Tween 80

20

Grupo	# de Ratones	Compuesto	Ruta	Programación	Dosis (mg/kg)
1	8	vehículo	PO	una vez al día	--
2	8	Compuesto B	PO	una vez al día	20
3	8	Compuesto A	PO	una vez al día	250
4	8	Compuesto B + Compuesto A	PO	una vez al día	20 + 250

25 Los xenoinjertos tumorales se implantan en ratones desnudos hembra de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1. El tratamiento se inicia 19 días después del implante y se continúa durante 11 días en los grupos dosificados con vehículo y Compuesto A como único agente, o 18 días en los grupos dosificados con Compuesto B como único agente y la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN.

Los resultados se representan gráficamente en la Figura 1.

30 El compuesto A muestra actividad antitumoral moderada en el modelo de xenoinjerto HMEX2613 del mutante B-Raf con un T/C de 45%.

El Compuesto B y la COMINACIÓN DE LA INVENCIÓN muestran una regresión tumoral completa.

35 El grupo de vehículo y el Compuesto A como único agente se dosificaron durante 11 días y luego se sacrificaron humanamente. El compuesto B como único agente y la combinación del Compuesto B/Compuesto A se dosificaron durante 18 días y se monitorizó el nuevo crecimiento tumoral después de la última dosis.

40 El Compuesto B como único agente muestra el nuevo crecimiento del tumor 5 días después de la última dosis y el 37% de animales libres de tumor al final del estudio [5 de los 8 tumores volvieron a crecer].

La COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN muestra un retraso en el crecimiento de 26 días después de la última dosis y 62% de animales libres de tumor al final del estudio [3 de 8 tumores volvieron a crecer].

45 No se observó una pérdida significativa de peso corporal en los animales tratados.

Ejemplo 3

50 Objetivo: evaluar la eficacia de la COMBINACIÓN DE LA INVENCIÓN en el modelo de melanoma primario HMEX1906 que se cultiva en presencia de y es resistente a 5 mg/kg del Compuesto B (HMEX1906-R5)

Formulación del fármaco: el Compuesto A está formulado en 0,5% de MC/0,5% de Tween 80 y el Compuesto B está formulado en 20% de PEG300/3% de ETPGS.

55 Se implantan xenoinjertos tumorales en ratones hembra desnudos de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1. Los ratones no se dosificaron con el Compuesto B después del implante del tumor en pedazos.

Los ratones se asignaron a los siguientes grupos a los 18 días después del implante con un volumen tumoral promedio de 266 mm<sup>3</sup> y un peso corporal promedio de 25 gramos.

Grupos: 10 ratones/grupo, ruta PO, volumen de dosis 0,2 mL

- 5 Grupo 1: Vehículo, 0 mg/kg dos veces al día por 14 días
- Grupo 2: Compuesto A, 250 mg/kg una vez al día por 21 días
- Grupo 3: Compuesto B, 5 mg/kg dos veces al día por 21 días
- Grupo 4: Compuesto A, 250mg/kg una vez al día por 21 días + Compuesto B, 5 mg/kg dos veces al día por 21 días

10 Resultados:

Grupo	Cambio medio del volumen del tumor frente al control (T/C) (%)	Regresión (%)	Cambio medio del volumen del tumor (mm <sup>3</sup> ± SEM)	Cambio medio del peso corporal (% ± SEM)	Supervivencia (Supervivientes/Total)
1	100	-	2092 ± 154	4,2 ± 2,6	7/10*
2	4	-	86 ± 26	5,3 ± 1,4	10/10
3	39	-	807 ± 106	3,5 ± 1,1	10/10
4	-	64,32	-170 ± 45	7,1 ± 1,6	10/10

\* 3 ratones fueron sacrificados debido a un tumor muy grande

Ejemplo 4

- 15 Materiales y métodos: los patrones de los compuestos se prepararon en DMSO a una concentración final de 10 mM. Los patrones de trabajo se diluyeron en forma serial en el medio de cultivo celular apropiado en incrementos de 3 veces para lograr concentraciones de ensayo finales que varían de 2,7 µM a 1,2 nM para los Compuestos B y D, y de 10 µM a 4,6 nM para el Compuesto A.
- 20 Líneas celulares, cultivo celular, mediciones de viabilidad celular: las células A-375 y WM-266-4 se adquirieron a través de American Type Culture Collection (ATCC). Las células A-375 se cultivaron en medio DMEM (ATCC) y las células WM-266-4 se cultivaron en medio EMEM (ATCC) ambos suplementados con suero bovino fetal al 10% (Gibco) y se incubaron a 37 °C/5% de CO<sub>2</sub>. Las líneas celulares modificadas para expresar alelos comunes indicativos de resistencia se adquirieron a través de Novartis-Emeryville. Estos modelos resistentes incluyen, células A-375 que expresan MEK1P124L mutante, p61-BRAFV600E truncado, o NRASQ61K mutantes, y las células WM-266-4 que expresan MEK1C121S mutante, p61-BRAFV600E truncado, o NRASQ61K mutante. Estas células se cultivaron en el medio parental apropiado con el marcador de selección G418 y en presencia de LFE158 5 µM (mutantes de MEK) o LIH720 (p61-BRAFV600E truncado).
- 25
- 30 Diseño de la placa, dispensación de células y adición de compuestos: para el cribado, las células se sembraron en 80 µL de medio en placas de 384 pozos (Thermo Scientific, catálogo # 4332) con una densidad de células de 500 (A-375) o 750 (WM-266-4) por pozo utilizando un dispensador MultiDrop Combi (Thermo-Fisher) con un casete estándar de 8 canales. Para promover una distribución uniforme de las células en todo el pozo, las células se centrifugaron brevemente a 1000 RPM y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Todas las placas se incubaron a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub> durante 24 horas antes de la adición del compuesto. El patrón del compuesto se preparó recientemente en el medio de cultivo apropiado, y se añadió usando un robot PAA equipado con una herramienta de puntas de 200 nL. En un mínimo de tres pozos por triplicado, se evaluaron los efectos del agente único y la combinación después de 72 horas, tanto mediante cuantificación de los niveles de ATP celular a través de Cell Titer Glo (Promega) de acuerdo con el protocolo del fabricante como de formación de imágenes de microscopía. Para la obtención de imágenes, las células se fijaron a las placas y se permeabilizaron con una solución de 10% de PFA, 0,03% de TX-100 en PBS a través de un dispensador WellMate con velocidades de dispensación controladas. Los núcleos celulares se tiñeron con Hoechst 33342 (H3570, Invitrogen), y todos las etapas de lavado necesarias se llevaron a cabo con una lavadora BioTek.
- 35
- 40
- 45 Análisis automatizado de imágenes: las imágenes del InCell Analyzer 2000 (GE Healthcare, 28-9534-63) estaban en formato TIFF y tenían un tamaño de 2048x2048 píxeles, capturando todo el pozo de una placa de 384 pozos. Se estableció una fuente de información de análisis automatizado de imágenes utilizando secuencias de comandos personalizadas en el lenguaje de programación estadística R de código abierto y las funciones del paquete EBIImage de BioConductor. El objetivo era cuantificar el número de núcleos (células) viables por pozo, así como una aproximación para la viabilidad celular. La fuente de información constaba de siete etapas: (I.) suavizado de la imagen para reducir el número de picos de intensidad, (II.) Aplicación de una función de umbral para separar el primer plano (señal) del fondo (ruido), (III.) identificación de máximos locales en primer plano que sirven como semillas para los núcleos, (IV.) filtrado de máximos locales en las proximidades, (V.) propagación de los núcleos a partir de máximos locales restantes, (VI.) y extracción de las características del objeto de los núcleos propagados (números de núcleos, características de tamaño y características de intensidad). Como última etapa (VII.), para excluir los desechos (por ejemplo, núcleos fragmentados) del recuento, se utilizaron objetos identificados en pozos tratados con DMSO y
- 50
- 55

estaurosporina para obtener distribuciones de características para núcleos viables y fragmentados, respectivamente. Estos se usaron para establecer límites que diferencian entre núcleos viables y fragmentados. El número de núcleos fragmentados se restó del número total de objetos identificados y el resultado se informó como recuento final para ese pozo.

5 Normalización de datos: los datos comprendían mediciones por triplicado para cada condición de tratamiento (compuesto), 42 réplicas de pozos tratados con DMSO y duplicados de pozos tratados con estaurosporina. Los datos se normalizaron a la mediana de las mediciones de DMSO y se resumieron calculando la mediana de los triplicados. Los datos se importaron a Chalice para calcular las sinergias compuestas.

10

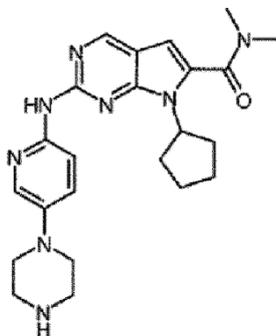
Resultados:

Valores del IC50 de un solo agente y puntajes de sinergia de combinación determinados usando el ensayo CTG basado en ATP						
Línea celular principal	Alelo resistente	IC50 del Compuesto A (nM)	IC50 del Compuesto B (nM)	IC50 del Compuesto D (nM)	Sinergia del exceso de Lowe de los Compuestos B+D	Sinergia del exceso de Lowe de los Compuestos A+B+D
A-375	-	>10000	4	51	3,0	2,7
A-375	MEK1 <sup>P124L</sup>	>10000	333	>2700	7,8	1,0
A-375	p61 BRaf <sup>V600E</sup>	>10000	576	961	4,6	1,0
A-375	NRAS <sup>Q61K</sup>	>10000	134	206	4,3	2,5
WM-266-4	-	>10000	2	50	4,2	2,7
WM-266-4	MEK1 <sup>C121S</sup>	>10000	35	821	5,4	2,0
WM-266-4	p61 BRaf <sup>V600E</sup>	>10000	906	>2700	5,8	1,6
WM-266-4	NRAS <sup>Q61K</sup>	>10000	1122	>2700	5,1	1,3
Valores del IC50 de un solo agente y puntajes de sinergia de combinación, determinados utilizando el ensayo de microscopía						
Línea celular principal	Alelo resistente	IC50 del Compuesto A (nM)	IC50 del Compuesto B (nM)	IC50 del Compuesto D (nM)	Sinergia del exceso de Lowe de los Compuestos B+D	Sinergia del exceso de Lowe de los Compuestos A+B+D
A-375	-	3184	4	57	2,4	2,7
A-375	MEK1 <sup>P124L</sup>	>10000	300	>2700	9,3	1,6
A-375	p61 BRaf <sup>V600E</sup>	8035	849	969	5,9	1,7
A-375	NRAS <sup>Q61K</sup>	4208	133	150	4,6	4,4
WM-266-4	-	630	3	77	4,7	3,0
WM-266-4	MEK1 <sup>C121S</sup>	806	58	1210	6,3	1,5
WM-266-4	p61 BRaf <sup>V600E</sup>	2621	933	>2700	6,8	0,7
WM-266-4	NRAS <sup>Q61K</sup>	839	868	>2700	4,5	1,1

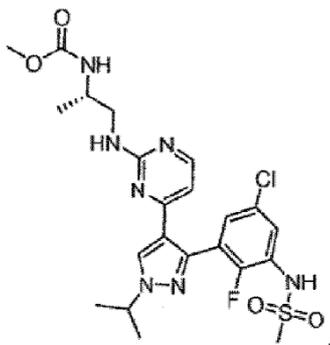
**REIVINDICACIONES**

1. Una combinación farmacéutica que comprende:

5 (a) un inhibidor de CDK4/6 de la fórmula



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y  
 (b) un inhibidor de B-Raf de la fórmula

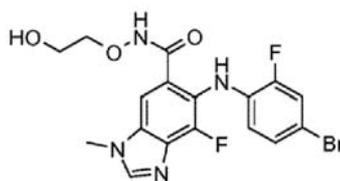


15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. La combinación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además un inhibidor de MEK 1/2.

3. La combinación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en la que el inhibidor de MEK 1/2 es un compuesto de la fórmula

20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 4. Una combinación farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 3 para usar en el tratamiento de una enfermedad proliferativa en un sujeto que la necesita.

30 5. La combinación farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 4, en la que la enfermedad proliferativa es melanoma, cáncer de pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP)), cáncer colorrectal (CRC), cáncer de mama, cáncer de riñón, carcinoma de células renales (RCC), cáncer de hígado, leucemia mielógena aguda (LMA), síndromes mielodisplásicos (SMD), cáncer de tiroides, cáncer de páncreas, neurofibromatosis o carcinoma hepatocelular.

35 6. La combinación farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en la que la enfermedad proliferativa se caracteriza por una mutación de B-Raf.

7. La combinación farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 4, en la que la combinación es para usar en el tratamiento de una enfermedad proliferativa en un paciente humano, en la que la combinación se administra simultáneamente, por separado o secuencialmente al paciente.
- 5 8. La combinación farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la enfermedad proliferativa es melanoma, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal (CRC), cáncer de mama, cáncer de riñón, carcinoma de células renales (RCC), cáncer de hígado, leucemia mielógena aguda (LMA) , síndromes mielodisplásicos (SMD), cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), cáncer de tiroides, cáncer de páncreas, neurofibromatosis o carcinoma hepatocelular.
- 10 9. La combinación farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la enfermedad proliferativa se caracteriza por una mutación de B-Raf.
- 15 10. La combinación farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que la enfermedad proliferativa se caracteriza por una mutación de B-Raf V600.
- 20 11. La combinación farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que la enfermedad proliferativa es melanoma o cáncer colorrectal.
- 25 12. Una preparación combinada que comprende una combinación farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 3.
13. Una composición farmacéutica que comprende una combinación farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 3.

Figura 1.

