



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 339 593**

(51) Int. Cl.:

**A61K 31/506** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **06760628 .5**

(96) Fecha de presentación : **02.06.2006**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1893213**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **05.03.2008**

(54) Título: **Combinación de compuestos de pirimidilaminobenzamida e imatinib para tratar o prevenir enfermedades proliferativas.**

(30) Prioridad: **03.06.2005 US 687758 P**

(73) Titular/es: **Novartis AG.  
Lichtstrasse 35  
4056 Basel, CH**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**21.05.2010**

(72) Inventor/es: **Alland, Leila;  
Manley, Paul, W. y  
Mestan, Juergen**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**21.05.2010**

(74) Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

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

Combinación de compuestos de pirimidilaminobenzamida e imatinib para tratar o prevenir enfermedades proliferativas.

La presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende (a) un derivado de pirimidilaminobenzamida y (b) 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]-benzamida (imatinib, que se vende bajo el nombre Gleevec®) y a los usos de tal combinación para el tratamiento de enfermedades proliferativas, lo más preferiblemente tumores estromales gastrointestinales (GIST).

Los tumores estromales gastrointestinales (GIST) son una familia recientemente caracterizada de neoplasmas mesenquimales, que se originan a partir del tracto gastrointestinal, lo más comúnmente a partir del estómago (de 60 a 70% de todos los GIST). En el pasado, estos tumores se clasificaron diversamente como leiomioma, leiomioblastoma o leiomiosarcoma. Sin embargo, está claro ahora que los GIST representan un grupo clinicopatológico distinto de enfermedades basadas en su patogénesis molecular y características clínicas únicas. Los GIST se producen lo más comúnmente en la mediana edad o en la vejez con una edad media de 50 a 60 años en la presentación, y no muestran una diferencia de sexos significativa en la incidencia. Se estima que al menos 10-30% de los GIST son malignos, dando lugar a extensión y metástasis intraabdominales, que lo más comúnmente se encuentran en el hígado y la siembra peritoneal. Los GIST malignos se producen con una frecuencia anual de aproximadamente 0,3 nuevos casos por 100.000. El síntoma que se presenta más comúnmente es un vago dolor abdominal superior. Muchos (30%) son asintomáticos, y los GIST pueden diagnosticarse durante la evaluación de la anemia resultante de hemorragia gastrointestinal asociada a tumores.

El tratamiento del GIST metastásico e inoperable es un problema principal, ya que los GIST son notablemente insensibles a la quimioterapia para el cáncer. Por ejemplo, en una reciente serie en fase II, 12 de 18 (67%) pacientes con leiomiosarcomas avanzados respondían a un régimen que consistía en dacarbazina, mitomicina, doxorrubicina, cisplatino y sargamostim, pero sólo uno (5%) de 21 GIST respondía (J. Edmonson, R. Marks, J. Buckner, M. Mahoney, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 1999; 18: 541a "Contrast of response to D-MAP + sargamostin between patients with advanced malignant gastrointestinal stromal tumors and patients with other advanced leiomyosarcomas"). Los resultados del tratamiento han seguido siendo igualmente poco convincentes con otros regímenes quimioterapéuticos. En línea con la quimiorresistencia clínica, la expresión de glicoproteína P y proteína de resistencia a múltiples fármacos (MDR) es más pronunciada en GIST malignos en comparación con leiomiosarcomas.

A pesar de las numerosas opciones de tratamiento para pacientes con enfermedades proliferativas, sigue habiendo una necesidad de agentes antiproliferativos eficaces y seguros y una necesidad de su uso preferente en una terapia de combinación.

Se ha demostrado ahora sorprendentemente que el GIST puede tratarse satisfactoriamente con 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida o sales farmacéuticamente aceptables de la misma, en combinación con imatinib.

### Sumario de la invención

Se ha encontrado ahora que una combinación que comprende (a) 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida o sales farmacéuticamente aceptables de la misma e (b) imatinib, p. ej. como la definida posteriormente, tiene un efecto beneficioso sobre las enfermedades proliferativas, p. ej. tumores, y lo más especialmente GIST.

### Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere al uso de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida o sales farmacéuticamente aceptables de la misma, e imatinib.

Las sales son especialmente las sales farmacéuticamente aceptables de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida.

Tales sales se forman, por ejemplo, como sales de adición de ácido, preferiblemente con ácidos orgánicos o inorgánicos, a partir de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]-benzamida con un átomo de nitrógeno básico, especialmente las sales farmacéuticamente aceptables. Ácidos inorgánicos adecuados son, por ejemplo, ácidos halogenados, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico. Ácidos orgánicos adecuados son, por ejemplo, ácidos carboxílicos, fosfónicos, sulfónicos o sulfámicos, por ejemplo ácido acético, ácido propiónico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido adipíco, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaíco, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, tales como ácido glutámico o ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido ciclohexanocarboxílico, ácido adamantanocarboxílico, ácido benzoico, ácido salícílico, ácido 4-aminosalícílico, ácido ftálico, ácido fenilacético, ácido mandélico, ácido cinámico, ácido metano- o etano-sulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 2-naf-talenosulfónico, ácido 1,5-naftalenodisulfónico, ácido 2-, 3- o 4-metilbencenosulfónico, ácido metilsulfúrico, ácido

etilsulfúrico, ácido dodecilsulfúrico, ácido N-ciclohexilsulfámico, ácido N-metil-, N-etil- o N-propilsulfámico, u otros ácidos protónicos orgánicos, tales como ácido ascórbico.

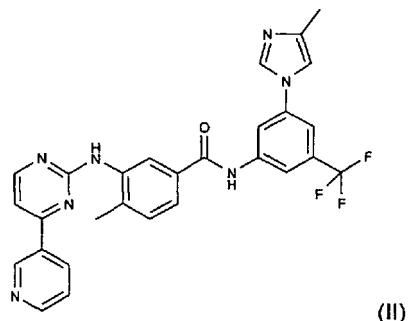
En presencia de radicales cargados negativamente, tales como carboxi o sulfo, también pueden formarse sales con bases, p. ej. sales metálicas o amónicas, tales como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, por ejemplo sales sódicas, potásicas, magnésicas o cálcicas, o sales amónicas con amoníaco o aminas orgánicas adecuadas, tales como monoaminas terciarias, por ejemplo trietilamina o tri(2-hidroxietil)amina, o bases heterocíclicas, por ejemplo N-etilpiperidina o N,N'-dimetilpiperazina.

Cuando están presentes un grupo básico y un grupo ácido en la misma molécula, la 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida también puede formar sales internas.

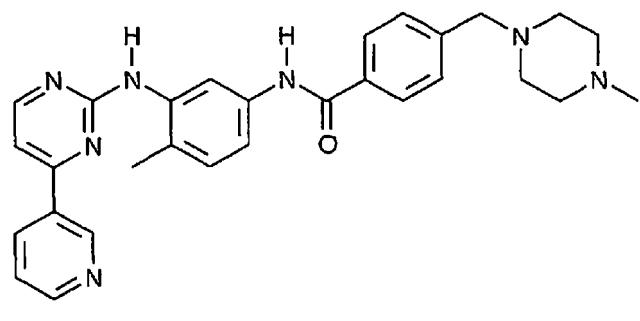
Con propósitos de aislamiento o purificación, también es posible usar sales farmacéuticamente inaceptables, por ejemplo picratos o percloratos. Para uso terapéutico, solo se emplean sales farmacéuticamente aceptables o compuestos libres (cuando sea aplicable, en forma de preparaciones farmacéuticas), y por lo tanto estos se prefieren.

En vista de la estrecha relación entre los nuevos compuestos en forma libre y aquellos en forma de sus sales, incluyendo aquellas sales que pueden usarse como productos intermedios, por ejemplo en la purificación o la identificación de los nuevos compuestos, debe entenderse anteriormente y posteriormente en la presente memoria que cualquier referencia a los compuestos libres se refiere también a las sales correspondientes, según sea apropiado y conveniente.

Compuestos de pirimidilaminobenzamida y el procedimiento para su fabricación se divultan en WO 04/005281 publicada el 15 de enero de 2004. Un compuesto preferido es la 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida, y las sales farmacéuticamente aceptables de la misma, de la fórmula (II):



Combinaciones de la presente invención incluyen el compuesto 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]-benzamida (imatinib, que se vende bajo el nombre Gleevec®) que es de la fórmula (III):



La preparación del Compuesto (III) y el uso del mismo, especialmente como un agente antitumoral, se describen en el Ejemplo 21 de la solicitud de patente europea EP-A-0 564 409, que se publicó el 6 de octubre de 1993, y en solicitudes y patentes equivalentes en otros muchos países, p. ej. en la patente de EE. UU. 5.521.184 y en la patente japonesa 2706682.

La sal de adición de ácido monometanosulfónico del Compuesto (III) y una forma cristalina preferida de la misma se describen en la solicitud de patente PCT WO99/03854, publicada el 28 de enero de 1999.

Están comprendidas asimismo sus sales farmacéuticamente aceptables, los correspondientes racematos, diastereoísmeros, enantiómeros, tautómeros, así como las modificaciones cristalinas correspondientes de los compuestos divulgados anteriormente cuando están presentes, p. ej. solvatos, hidratos y polimorfos, que se divultan allí. Los compuestos usados como ingredientes activos en las combinaciones de la invención pueden prepararse y administrarse 5 según se describe en los citados documentos, respectivamente. También dentro del alcance de esta invención está la combinación de más de dos ingredientes activos separados como los indicados anteriormente, es decir, una combinación farmacéutica dentro del alcance de esta invención podría incluir tres ingredientes activos o más.

De acuerdo con los hallazgos particulares de la presente invención, se proporciona el uso de una combinación 10 de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma con imatinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de tumores estromales gastrointestinales.

La utilidad de la combinación de la invención puede demostrarse en métodos de ensayo en animales así como en 15 la clínica, por ejemplo de acuerdo con los usos descritos posteriormente en la presente memoria.

#### A. Tratamiento Combinado

Estudios clínicos adecuados son, por ejemplo, estudios de aumento a escala de la dosis con etiqueta abierta en 20 pacientes con enfermedades proliferativas, especialmente GIST. Tales estudios prueban en particular la sinergia de los ingredientes activos de la combinación de la invención. Los efectos beneficiosos sobre GIST pueden determinarse directamente a través de los resultados de estos estudios que son conocidos como tales para un experto en la técnica. Tales estudios son, en particular, adecuados para comparar los efectos de una monoterapia que usa los ingredientes activos y una combinación de la invención. Preferiblemente, la dosis de agente (a), el compuesto (II), se aumenta 25 a escala hasta que se alcanza la dosis tolerada máxima, y el agente (b) imatinib se administra con una dosis fija. Alternativamente, el agente (a) se administra en una dosis fija y la dosis de agente (b) se aumenta a escala. Cada paciente recibe dosis del agente (a) bien diariamente o bien intermitentemente. La eficacia del tratamiento puede determinarse en tales estudios, p. ej., después de 12, 18 ó 24 semanas mediante la evaluación de puntuaciones de 30 síntomas cada 6 semanas.

La administración de una combinación farmacéutica de la invención da como resultado no solo un efecto beneficioso, p. ej. un efecto terapéutico sinérgico, p. ej. con respecto a aliviar, retrasar el avance de o inhibir los síntomas, sino también efectos beneficiosos sorprendentes adicionales, p. ej. menos efectos secundarios, una calidad de vida mejorada o una morbidez disminuida, en comparación con una monoterapia que aplica solo uno de los ingredientes farmacéuticamente activos usados en la combinación de la invención.

Un beneficio adicional es que pueden usarse dosis inferiores de los ingredientes activos de la combinación de la invención, por ejemplo, que las dosificaciones a menudo no solo necesitan ser inferiores sino también aplicarse menos frecuentemente, lo que puede disminuir la incidencia o la gravedad de los efectos secundarios. Esto está de acuerdo 40 con los deseos y los requerimientos de los pacientes que han de ser tratados.

Los términos “coadministración” o “administración combinada” o similares, según se utilizan en la presente memoria, pretenden abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo paciente, y están destinados a incluir regímenes de tratamiento en los que los agentes no se administran necesariamente mediante la misma ruta de administración o al mismo tiempo.

Un objetivo de esta invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprende una cantidad de una combinación de la invención, que es terapéuticamente eficaz de forma conjunta para tratar o prevenir enfermedades proliferativas, especialmente GIST. En esta composición, el agente (a) y el agente (b) pueden administrarse conjuntamente, uno después del otro o separadamente en una forma de dosificación unitaria combinada o en dos formas de dosificación unitarias separadas. La forma de dosificación unitaria también puede ser una combinación fija.

Las composiciones farmacéuticas para la administración separada del agente (a) y el agente (b) o para la administración en una combinación fija, es decir, una única composición galénica que comprende al menos dos socios de combinación (a) y (b), de acuerdo con la invención pueden prepararse de un modo conocido de por sí y son las adecuadas para la administración enteral, tal como oral o rectal, y parenteral a mamíferos (animales de sangre caliente), incluyendo seres humanos, comprendiendo una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un socio de combinación farmacológicamente activo solo, p. ej. como se indica anteriormente, o en combinación con uno o más portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables, especialmente adecuados para la aplicación enteral o parenteral.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas contienen, por ejemplo, de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 99,9%, preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 60%, del ingrediente o los ingredientes activos. Las preparaciones farmacéuticas para la terapia de combinación para la administración enteral o parenteral son, por ejemplo, aquellas en formas de dosificación unitarias, tales como comprimidos revestidos con azúcar, comprimidos, cápsulas o supositorios, o ampollas. Si no se indica de otro modo, estas se preparan de un modo conocido de por sí, por ejemplo por medio de procedimientos de mezcladura, granulación, revestimiento con azúcar, disolución o liofilización convencionales. Se apreciará que el contenido unitario de un socio de combinación contenido en una dosis

# ES 2 339 593 T3

individual de cada forma de dosificación no necesita constituir él mismo una cantidad eficaz puesto que la cantidad eficaz necesaria puede alcanzarse mediante la administración de una pluralidad de unidades de dosificación.

En particular, una cantidad terapéuticamente eficaz de cada uno de los socios de combinación de la combinación de la invención puede administrarse simultáneamente o secuencialmente en cualquier orden, y los componentes pueden administrarse separadamente o como una combinación fija. Por ejemplo, el método para prevenir o tratar enfermedades proliferativas de acuerdo con la invención puede comprender (i) la administración del primer agente (a) en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable y (ii) la administración de un agente (b) en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, simultáneamente o secuencialmente en cualquier orden, en cantidades conjuntamente terapéuticamente eficaces, preferiblemente en cantidades sinérgicamente eficaces, p. ej. en dosificaciones diarias o intermitentes correspondientes a las cantidades descritas en la presente memoria. Los socios de combinación individuales de la combinación de la invención pueden administrarse separadamente en momentos diferentes durante el transcurso de la terapia o al mismo tiempo en formas de dosificación divididas o simples. Por otra parte, el término administrar también abarca el uso de un profármaco de un socio de combinación que se convierte *in vivo* en el socio de combinación como tal. Por lo tanto, debe entenderse que la presente combinación abarca todos estos regímenes de tratamiento simultáneo o alternativo y el término “administrar” ha de interpretarse de acuerdo con esto.

La dosificación eficaz de cada uno de los socios de combinación empleados en la combinación de la invención puede variar dependiendo del compuesto o la composición farmacéutica particular empleado, del modo de administración, del estado que se trate y la gravedad de la afección que se trate. Así, el régimen de dosificación de la combinación de la invención se selecciona de acuerdo con una variedad de factores, incluyendo la ruta de administración y la función renal y hepática del paciente. Un clínico o médico de experiencia normal puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de los ingredientes activos individuales requeridos para aliviar, contrarrestar o detener el avance de la afección. Una precisión óptima para alcanzar la concentración de los ingredientes activos dentro del intervalo que dé eficacia sin toxicidad requiere un régimen basado en la cinética de la disponibilidad de los ingredientes activos para sitios diana.

Las dosis diarias de agente (a) o (b) variarán, por supuesto, dependiendo de una variedad de factores, por ejemplo el compuesto elegido, la afección particular que ha de tratarse y el efecto deseado.

Preferiblemente, el compuesto 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]-benzamida, agente (a) se administra oralmente, preferiblemente en una dosificación diaria de 1-300 mg/kg de peso corporal o, para la mayoría de los primates superiores, una dosificación diaria de 50-5000, preferiblemente 500-3000 mg. Una dosificación oral diaria preferida es 1-75 mg/kg de peso corporal o, para la mayoría de los primates superiores, una dosificación diaria de 10-2000 mg, administrada en una sola dosis o dividida en múltiples dosis, tal como una dosificación de dos veces al día.

El agente (b) puede administrarse a un ser humano en un intervalo de dosificación diaria de 0,5 a 1000 mg. Formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración oral comprenden de alrededor de 0,1 a 500 mg de ingrediente activo, junto con uno o más diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables para el mismo.

Sin embargo, en general, se alcanzan resultados satisfactorios con la administración del agente (b) en grados de dosificación diaria del orden de alrededor de 0,03 a 5 mg/kg al día, particularmente de 0,1 a 5 mg/kg al día, p. ej. de 0,1 a 2,5 mg/kg al día, como una sola dosis o en dosis divididas. El agente (a) y el agente (b) pueden administrarse mediante cualquier ruta convencional, en particular enteralmente, p. ej. oralmente, p. ej. en forma de comprimidos, cápsulas, soluciones bebibles o parenteralmente, p. ej. en forma de soluciones o suspensiones inyectables, junto con uno o más diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables para los mismos.

La administración de una combinación farmacéutica de la invención da como resultado no solo un efecto beneficioso, p. ej. un efecto terapéutico sinérgico, p. ej. con respecto a inhibir la proliferación desregulada de o frenar el avance del crecimiento de tumores, sino también efectos beneficiosos sorprendentes adicionales, p. ej. menos efectos secundarios, una calidad de vida mejorada o una morbidez disminuida, en comparación con una monoterapia aplicando sólo uno de los ingredientes farmacéuticamente activos usados en la combinación de la invención.

Un beneficio adicional es que pueden usarse dosis inferiores de los ingredientes activos de la combinación de la invención, por ejemplo, que las dosificaciones a menudo no solo necesitan ser menores sino también aplicarse menos frecuentemente, o pueden usarse para disminuir la incidencia de efectos secundarios. Esto está de acuerdo con los deseos y los requerimientos de los pacientes a tratar.

## 60 B. *Enfermedades a tratar*

El término “enfermedad proliferativa” incluye, pero no se restringe a, tumores, psoriasis, reestenosis, esclerodermatitis y fibrosis.

El término enfermedad maligna hematológica se refiere en particular a leucemias, especialmente las que expresan Bcr-Abl, c-Kit o Flt-3, e incluye, pero no se limita a, leucemia mielógena crónica y leucemia linfocítica aguda (ALL), especialmente leucemia linfocítica aguda positiva al cromosoma Filadelfia (Ph+ALL) así como leucemia resistente a ST1571.

El término “una enfermedad tumoral sólida” significa especialmente cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de colon y generalmente del tracto gastrointestinal, cáncer cervical, cáncer de pulmón, p. ej. cáncer de pulmón microcítico y cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer de próstata o sarcoma de Kaposi.

5 Por lo tanto, las combinaciones de acuerdo con la invención, que inhiben las actividades de proteína quinasa mencionadas, especialmente tirosina proteína quinasas mencionadas anteriormente y posteriormente, pueden usarse en el tratamiento de enfermedades dependientes de proteína quinasas. Enfermedades dependientes de proteína quinasas son especialmente enfermedades proliferativas, preferiblemente tumores benignos o especialmente malignos (por ejemplo 10 carcinoma de los riñones, el hígado, las glándulas adrenales, la vejiga, la mama, el estómago, los ovarios, el colon, el recto, la próstata, el páncreas, los pulmones, la vagina o el tiroides, sarcoma, glioblastomas y numerosos tumores del cuello y la cabeza, así como leucemias). Son capaces de llevar a cabo la regresión de tumores y de prevenir la formación de metástasis tumorales y el crecimiento de (también micro)metástasis. Además, pueden usarse en la 15 hiperproliferación epidérmica (p. ej. psoriasis), en la hiperplasia prostática y en el tratamiento de neoplasias, especialmente de carácter epitelial, por ejemplo carcinoma mamario. También es posible usar las combinaciones de la presente invención en el tratamiento de enfermedades del sistema inmunitario en tanto que estén implicadas varias o, especialmente, tirosina proteína quinasas individuales. Por otra parte, las combinaciones de la presente invención también 20 pueden usarse en el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central o periférico en las que esté implicada la transmisión de señales por al menos una tirosina proteína quinasa, especialmente seleccionada de las mencionadas específicamente.

En la leucemia mielógena crónica (CML), una traslocación cromosómica recíprocamente equilibrada en células pluripotenciales hematopoyéticas (HSC) produce el gen híbrido BCR-ABL. El último codifica la proteína de fusión oncogénica Bcr-Abl. Mientras que ABL codifica una proteína tirosina quinasa estrechamente regulada, que representa 25 un papel fundamental en la regulación de la proliferación, la adherencia y la apoptosis celulares, el gen de fusión BCR-ABL codifica una quinasa constitutivamente activada, que transforma las HSC para producir un fenotipo que exhibe una proliferación clonal desregulada, una capacidad reducida para adherirse al estroma de la médula ósea y una respuesta apoptótica reducida a estímulos mutagénicos, lo que le permite acumular transformaciones progresivamente más malignas. Los granulocitos resultantes no se desarrollan en linfocitos maduros y se liberan a la circulación, conduciendo 30 a una deficiencia en las células maduras y una susceptibilidad incrementada de infección. Se han descrito inhibidores competitivos con ATP de Bcr-Abl que evitan que la quinasa active rutas mitogénicas y antiapoptóticas (p. ej. P-3 quinasa y STAT5), conduciendo a la muerte de las células con fenotipo BCR-ABL y proporcionando de ese modo una terapia eficaz contra la CML. Las combinaciones de la presente invención son así especialmente apropiadas para la terapia de enfermedades relacionadas con su sobreexpresión, especialmente leucemias, tales como, p. ej., CML o ALL.

35 La combinación de la presente invención inhibe principalmente el crecimiento de vasos sanguíneos y es así, por ejemplo, eficaz contra un número de enfermedades asociadas con la angiogénesis desregulada, especialmente enfermedades provocadas por neovascularización ocular, especialmente retinopatías, tales como retinopatía diabética o degeneración macular relacionada con la edad, psoriasis, hemangioblastoma, tal como hemangioma, trastornos proliferativos de células mesangiales, tales como enfermedades renales crónicas y agudas, p. ej. nefropatía diabética, nefroesclerosis maligna, síndromes microangiopáticos trombóticos o rechazo de trasplantes, o especialmente enfermedad renal inflamatoria, tal como glomerulonefritis, especialmente glomerulonefritis mesangioproliferativa, síndrome hemolítico-urémico, nefropatía diabética, nefroesclerosis hipertensiva, ateroma, reestenosis arterial, enfermedades autoinmunes, diabetes, endometriosis, asma crónica y especialmente enfermedades neoplásicas (tumores sólidos, pero 40 también leucemias y otras enfermedades malignas hematológicas), tales como especialmente cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón (especialmente cáncer de pulmón microcítico), cáncer de próstata o sarcoma de Kaposi. Las combinaciones de la presente invención inhiben el crecimiento de tumores y son especialmente adecuadas para 45 prevenir la extensión metastásica de tumores y el crecimiento de micrometástasis.

50 La invención se refiere a un método para tratar el mieloma, especialmente un mieloma que es resistente a la quimioterapia convencional. El término “mieloma”, según se usa en la presente memoria, se refiere a un tumor compuesto por células del tipo normalmente encontrado en la médula ósea. El término “mieloma múltiple”, según se usa en la 55 presente memoria, significa un neoplasma maligno diseminado de células plasmáticas que se caracteriza por múltiples focos tumorales en la médula ósea y secreción de un componente M (un fragmento de immunoglobulina monoclonal), asociado con lesiones osteolíticas extendidas que dan como resultado dolor de huesos, fracturas patológicas, hipercalemia y anemia normocítica normocrómica. El mieloma múltiple es incurable mediante el uso de quimioterapias convencionales y de alta dosis. La invención se refiere a un método para tratar el mieloma, especialmente un mieloma que es resistente a la quimioterapia convencional.

#### 60 Ejemplo

Se han presentado mutaciones activantes en receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas alfa (PDGFRA) en un subgrupo de pacientes con tumor estromal gastrointestinal (GIST) que no expresan receptor de factor de 65 células pluripotenciales mutante, c-KIT. La sensibilidad de un GIST positivo a PDGFRA mutante a imatinib depende de la localización de la mutación del PDGFRA: por ejemplo, la mutación del dominio de yuxtmembrana V561 D es más sensible al imatinib que la mutación del dominio de quinasa D842V. En este ejemplo, se investigan los efectos de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida

## ES 2 339 593 T3

e imatinib [Compuesto (III)] sobre dos mutantes de PDGFRA relacionados con GIST, V561 D y D842V, que poseen una sensibilidad diferencial a imatinib.

Líneas celulares y cultivo celular: Constructos de cDNA de PDGFRA D842V, V561 D y silvestre (wt) clonado en pcDNA3.1 (obtenido de M.C. Heinrich, Oregon Health & Science University Cancer Institute, Portland, OR) se transfecan establemente en células Ba/F3 mediante electroporación, y las células se seleccionan con respecto a la resistencia a neomicina y el crecimiento independiente de IL3. Todas las células se cultivan en presencia de CO<sub>2</sub> al 5% a 37°C, a una concentración de 5x10<sup>5</sup> células/ml, en medio cellgro RPMI 1640 (Mediatech, Inc. Herndon, VA), suplementado con suero de ternero fetal al 10% (FCS; Harlan Bioproducts, Indianapolis, IN), glutamina al 1% y penicilina/estreptomicina.

Células Ba/F3 parentales o wt-PDGFR-A-Ba/F3 se cultivan con medio acondicionado con WEHI al 15% como una fuente de IL-3. Todas las células transfectadas se cultivan en medio suplementado con 1 mg/ml de G418.

Anticuerpos e Inmunotransferencia: Se usa anti p-Tyr (clon 4G10, Upstate Biotechnology, NY) a 1:1000 para la inmunotransferencia. Se usa anticuerpo para PDGFRA (C-20, Santa Cruz Biotechnology, CA) a 1:200 para la inmunotransferencia. La preparación para lisis proteínica y la inmunotransferencia se llevan a cabo como se describe previamente. Weisberg *et al.*, Cancer Cell 2002; 1: 433-443.

Estudios de proliferación: El ensayo de exclusión con azul de tripano se ha descrito previamente (Weisberg *et al.*, Cancer Cell 2002;1: 433-443) y se usa para todos los estudios de proliferación celular. Compuesto II e imatinib se añaden simultáneamente en relaciones fijas a células bien D842V- o bien V561 D-PDGFR-A-Ba/F3. Se generan curvas de respuesta a la dosis y los índice de combinación se calculan como se describe en Weisberg *et al.*, Cancer Cell 2005;7:129-141.

Estudios en ratones y obtención de imágenes *in vivo*: Células D842V-PDGFR-A-Ba/F3 se transducen con un retrovirus que codifica luciferasa de luciérnaga (MSCV-Luc) y se seleccionan con puromicina a una concentración de 0,5 µg/ml para generar la línea celular D842VPDGFR-A-Ba/F3-luciferasa (luc+). Las células libres de micoplasma y contaminación viral se resuspenden en solución salina equilibrada de Hank (HBSS; Mediatech, Inc., VA) antes de la administración i.v. a ratones. Se preparan soluciones de Compuesto II disolviendo 200 mg en 1,0 ml de NMP para dar una solución transparente, y se diluyen diariamente antes de la administración con 9,0 ml de PEG300. Los ratones placebo recibían vehículo para el Compuesto II y se les administra 30-45 minutos separadamente.

A ratones desnudos NCR macho (5-6 semanas de edad; Taconic, NY) se les administra un total de 600.000 células D842V-PDGFRABa/F3-luc+ mediante inyección en la vena de la cola. Se obtienen imágenes de los ratones y la luminescencia corporal total se cuantifica como se describe previamente (Armstrong *et al.*, Cancer Cell 2003; 3:173-183). Una obtención de imágenes de línea de base un día después de la inoculación del tumor se usa para establecer grupos de tratamiento con igual carga tumoral. Los grupos de ratones son tratados con administración oral de vehículo, 150 mg/kg/día de Compuesto II (formulado como anteriormente; 6 días de tratamiento total). La obtención de imágenes repetida se realiza a diversos intervalos.

### Efectos de la combinación del Compuesto II e imatinib: D842V-PDGFR-A-Ba/F3:

Las combinaciones de Compuesto II e imatinib se prueban frente a células D842V-PDGFR-A-Ba/F3.

En general, se observan efectos positivos de la combinación entre el Compuesto II más imatinib.

El análisis con calcusina de los efectos combinados de Compuesto II más imatinib sugiere efectos de sinérgicos a casi aditivos a través de un intervalo de dosis (ED25-ED75), con antagonismo en ED90 (Tabla I).

### Efectos de la combinación de Compuesto II con imatinib: V561 D:

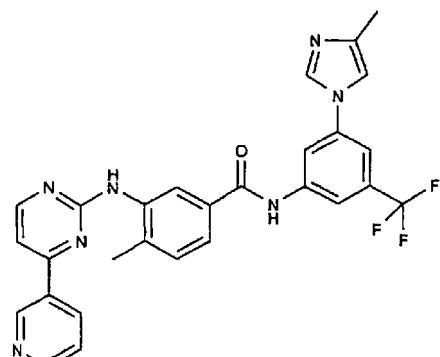
Los efectos de las combinaciones de Compuesto II con imatinib se evalúan contra V561 D-PDGFR-A-Ba/F3. Generalmente, ambas combinaciones conducían a grados variables de antagonismo a través de un intervalo de dosis en la línea celular V561 D-PDGFR-A-Ba/F3 (Tabla I).

TABLA I

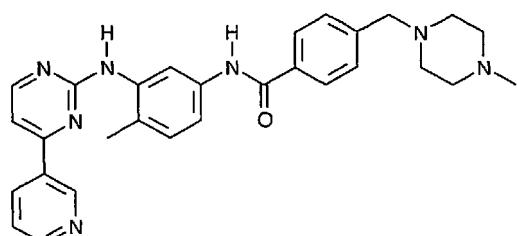
Índices de Combinación Calculados a partir de Curvas de Respuesta a la Dosis				
Línea Celular (Tratamientos)	ED25	ED50	ED75	ED90
D842V-Ba/F3 (Compuesto II + imatinib)	0,48812	0,73221	1,09836	1,64762
V561 D-Ba/F3 (Compuesto II + imatinib)	0,80100	1,00712	1,81556	5,23012

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de una combinación de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-  
5 3-(trifluorometil)fenil]-benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la fórmula:



e imatinib de la fórmula:



35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de tumores estromales gastrointestinales.

40

45

50

55

60

65