

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: <b>2006.06.02</b>	(73) Titular(es): <b>NOVARTIS AG</b> <b>LICHTSTRASSE 35 4056 BASEL</b> <b>NOVARTIS PHARMA GMBH</b>	<b>CH</b> <b>AT</b>
(30) Prioridade(s): <b>2005.06.03 US 687758 P</b>		
(43) Data de publicação do pedido: <b>2008.03.05</b>	(72) Inventor(es): <b>LEILA LEIALLAND</b> <b>PAUL W. MANLEY</b> <b>JUERGEN MESTAN</b>	<b>US</b> <b>CH</b> <b>DE</b>
(45) Data e BPI da concessão: <b>2010.02.17</b> <b>074/2010</b>	(74) Mandatário: <b>ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS</b> <b>RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA</b>	<b>PT</b>

(54) Epígrafe: **COMBINAÇÃO DE COMPOSTOS PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA E IMATINIB PARA TRATAMENTO OU PREVENÇÃO DE DOENÇAS PROLIFERATIVAS**

(57) Resumo:

**RESUMO**

**"COMBINAÇÃO DE COMPOSTOS PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA E IMATINIB  
PARA TRATAMENTO OU PREVENÇÃO DE DOENÇAS PROLIFERATIVAS"**

A invenção providencia uma composição farmacológica incluindo: a) um composto pirimidilaminobenzamida e b) imatinib; e um método para tratamento ou prevenção de uma doença proliferativa, especialmente GIST, utilizando essa tal combinação.

## **DESCRIÇÃO**

### **"COMBINAÇÃO DE COMPOSTOS PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA E IMATINIB PARA TRATAMENTO OU PREVENÇÃO DE DOENÇAS" PROLIFERATIVAS**

A presente invenção refere-se a uma composição farmacológica incluindo: a) um composto derivado de pirimidilaminobenzamida e b) 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamina)fenil]-benzamida (imatinib o qual é vendido sob o nome de Gleevec®) e a utilização de tal combinação para o tratamento de doenças proliferativas, mais preferivelmente tumores do estroma gastrointestinal (GIST).

Tumores do estroma gastrointestinal (GIST) são uma família recentemente caracterizada de neoplasmas mesenquimais, que têm origem no tracto gastrointestinal, mais vulgarmente do estômago (60 até 70 % de todos GISTs). No passado, estes tumores eram classificados de forma variada como leiomioma, leiomioblastoma ou leiomisarcoma. No entanto está claro agora que GISTs representam um conjunto clinicopatológico distinto de doenças baseado na sua patogénese molecular única e características clínicas. GISTs ocorrem vulgarmente na maioria na meia idade ou mais velhos com uma idade média de 50 até 60 anos na apresentação e não apresentam diferenças sexuais significativas na incidência. Está estimado que pelo menos 10-30 % de GISTs são malignos dando origem a alastramento intra-abdominal e metástases, as quais são mais vulgarmente encontradas no

fígado e disseminação peritoneal. GISTs malignos ocorrem numa frequência anual de cerca de 0,3 novos casos por 100,000. O sintoma de apresentação mais comum é uma dor vaga abdominal superior. Muitos (30 %) são assintomáticos e GISTs podem ser diagnósticos durante a avaliação de anemia resultando de hemorragia gastrointestinal associada a tumor.

A gestão de GIST metastático e não operável é um problema maior, uma vez que GISTs notoriamente não respondem a quimioterapia para cancro. Por exemplo, numa recente série de fase II, 12 em 18 doentes (67 %) com leiomiosarcomas avançados responderam a um regime consistindo em dacarbazina, mitomicina, doxorubicina, cisplatina e sargramostima, mas só um (5 %) em 21 GISTs respondeu (J. Edmonson, R.Marks, J. Buckner, M. Mahoney, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 1999; 18: 541a "Contrast of response to D-MAP + sargramostin between patients with advanced malignant gastrointestinal stromal tumors and patients with other advanced leiomyosarcomas"). Os resultados de tratamentos com outros regimes de quimioterapia mantiveram-se igualmente sem interesse. Na linha com a quimioresistência clínica, a expressão de P-glicoproteína e a proteína MRP1 resistente a múltiplos fármacos que se associa com resistência a múltiplos fármacos (MDR) são mais pronunciadas em GISTs quando comparadas com leiomiosarcomas.

Apesar das múltiplas opções de tratamento para doentes com doenças proliferativas, permanece uma neces-

sidade para agentes anti proliferativos efectivos e seguros e uma necessidade para a sua utilização preferencial em terapia de combinação.

Demonstrou-se agora de forma surpreendente que GIST pode ser tratado com sucesso com 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida ou seus sais farmacologicamente aceitáveis, em combinação com Imatinib.

### **Sumário da Invenção**

Verificou-se agora que uma combinação incluindo (a) 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida ou seus sais farmacologicamente aceitáveis e (b) imatinib, *e.g.*, como definido em seguida, tem um efeito benéfico em doenças proliferativas, *e.g.*, tumores e mais especialmente GIST.

### **Descrição Detalhada da Invenção**

A presente invenção refere-se à utilização de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida ou seus sais farmacologicamente aceitáveis e imatinib.

Os sais são especialmente os sais farmacologicamente aceitáveis de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-piri-

midinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida.

Tais sais são formados, por exemplo, como sais de adição de ácidos, preferivelmente com ácidos orgânicos ou inorgânicos a partir de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida com um átomo de azoto básico, especialmente os sais farmacologicamente aceitáveis. Ácidos inorgânicos adequados são, por exemplo, ácidos de halogênios, como seja ácido clorídrico, ácido sulfúrico ou ácido fosfórico. Ácidos orgânicos adequados são, por exemplo, ácido carboxílicos, fosfônicos ou sulfâmicos, por exemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido octanóico, ácido decanóico, ácido dodecanóico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, como sejam ácido glutâmico ou ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido ciclo-hexanocarboxílico, ácido adamantanocarboxílico, ácido benzóico, ácido salicílico, ácido 4-aminossalicílico, ácido ftálico, ácido fenilacético, ácido mandélico, ácido cinâmico, ácido metano- ou etano-sulfônico, ácido 2-hidroxietanossulfônico, ácido etano-1,2-dissulfônico, ácido benzenossulfônico, ácido 2-naftalenossulfônico, ácido 1,5-naftaleno-dissulfônico, ácido 2-, 3- ou 4-metilbenzeno-sulfônico, ácido metilsulfúrico, ácido etilsulfúrico, ácido dodecilsul-

fúrico, ácido N-ciclo-hexilsulfâmico, ácido N-metil-, N-etil- ou N-propil-sulfâmico ou outros ácidos orgânicos próticos, com o seja o ácido ascórbico.

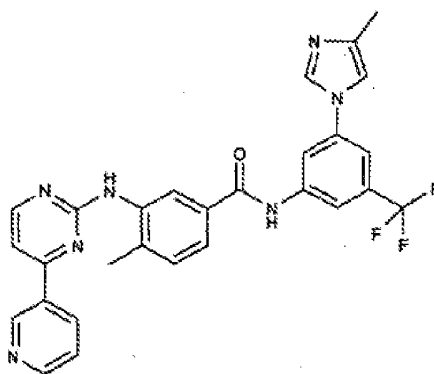
Na presença de radicais carregados negativamente, tais como carboxi ou sulfo, podem ser também formados sais com bases, *e.g.*, sais de metais ou de amónio, como sejam sais de metais alcalinos ou de metais alcalino-terrosos, por exemplo, sais de sódio, potássio, magnésio ou cálcio, ou sais de amónio com amoníaco ou aminas orgânicas adequadas, como sejam monoaminas terciárias, por exemplo, trietilamina ou tris(2-hidroxietil)amina, ou bases heterocíclicas, por exemplo, N-etilpiperidina ou N,N'-dimetil-piperazina.

Quando estão presentes na mesma molécula um grupo básico e um grupo ácido, a 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida pode também formar sais internos.

Para fins de isolamento ou purificação é também possível utilizar sais farmacologicamente não aceitáveis, por exemplo, picratos ou percloratos. Para utilização terapêutica só são utilizados sais farmacologicamente aceitáveis ou compostos livres (onde aplicável na forma de preparações farmacológicas) e estes são portanto preferíveis.

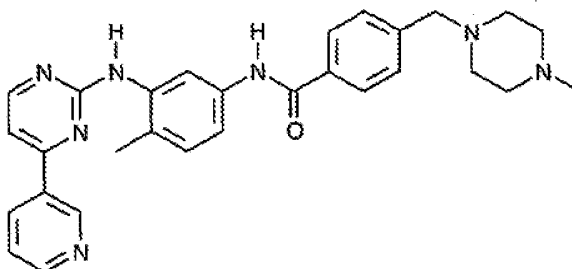
Do ponto de vista da estreita relação entre os novos compostos na forma livre e aqueles na forma dos seus sais, incluindo aqueles sais que podem ser utilizados como intermediários, por exemplo na purificação ou identificação dos novos compostos, qualquer referência aos compostos livres até aqui ou daqui em diante deve ser entendida como se referindo também aos correspondentes sais, quando apropriado e oportuno.

Compostos pirimidilaminabenzamida e o processo para a sua preparação estão apresentados em WO 04/005281 publicado em 15 de Janeiro de 2004. Um composto preferido é 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida e os seus sais farmacologicamente não aceitáveis de fórmula (II):



Combinações da presente invenção incluem o composto 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamina)fenil]-benzamida (imatinib o qual é vendido sob o nome de Gleevec®) de fórmula (III):





A preparação do Composto de fórmula (III) e a sua utilização, especialmente como um agente anti-tumor, estão descritos em Exemplo 21 do Pedido de Patente Europeia EP-A-0 564 409, a qual foi publicado em 6 de Outubro de 1993 e em pedidos de patente e patentes equivalentes em muitos outros países, e.g., na patente US 5.521.184 e na Patente Japonesa 2706682.

O sal de adição do ácido monometanossulfônico do Composto (III) e a sua forma cristalina preferida são descritos no pedido de patente PCT WO 099/03854 publicado em 28 de Janeiro de 1999.

Estão incluídos da mesma forma os seus sais farmacologicamente aceitáveis, os correspondentes racematos, diastereoisómeros, enantiómeros, tautómeros, bem como as modificações cristalinas correspondentes dos compostos apresentados anteriormente, quando existirem, e.g., solvatos, hidratos e polimorfos, os quais estão ali descritos. Os compostos utilizados como substâncias activas nas combinações da invenção podem ser preparadas e administradas como descrito nos documentos citados, respectivamente. Também, dentro do âmbito desta invenção está a combinação

de mais do que duas substâncias activas separadas como se descreveu anteriormente, *i.e.*, uma combinação farmacológica dentro do âmbito desta invenção poderia incluir três ou mais substâncias activas.

De acordo com os resultados particulares encontrados da presente invenção, está providenciada a utilização de uma combinação de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida, ou um seu sal farmacologicamente aceitável e imatinib ou um seu sal farmacologicamente aceitável para a preparação de um medicamento para o tratamento de tumores do estroma gastrointestinal.

A utilidade da combinação da invenção pode ser demonstrada em métodos de testes em animais, bem como em clínicos por exemplo de acordo com as utilizações descritas daqui em diante.

#### A. Tratamento Combinado

Estudos clínicos adequados são, por exemplo, estudos de escalonamento de dose, de marca aberta, em doentes com doenças proliferativas, especialmente GIST. Tais estudos provam em particular o sinergismo das substâncias activas da combinação da invenção. Os efeitos benéficos em GIST podem ser determinados directamente através dos resultados destes estudos que são conhecidos como tal por um especialista na técnica. Tais estudos são,

em particular, adequados para comparar os efeitos de uma mono terapia utilizando as substâncias activas e uma combinação da invenção. Preferivelmente, a dose do agente (a), composto (II) é escalonada até se alcançar o Doseamento Máximo Tolerado e o agente (b) imatinib é administrado numa dose fixa. Em alternativa, o agente (a) é administrado numa dose fixa e o doseamento do agente (b) é escalado. Cada doente recebe doses do agente (a) tanto diariamente como de forma intermitente. A eficácia do tratamento pode ser determinada em tais estudos, *e.g.*, depois de 12, 18 ou 24 semanas pela avaliação dos sintomas apresentados cada 6 semanas.

A administração de uma combinação farmacológica da invenção resulta não só num efeito benéfico, *e.g.*, um efeito terapêutico sinérgico, *e.g.*, no que respeita ao alívio, retardamento da progressão ou inibição dos sintomas, mas também em outros efeitos surpreendentemente benéficos, *e.g.*, menos efeitos secundários, uma qualidade de vida melhorada ou uma morbilidade decrescente, quando comparada com uma mono terapia aplicando somente uma das substâncias farmacologicamente activas utilizadas na combinação da invenção.

Um outro benefício é que podem ser utilizadas doses menores das substâncias activas da combinação da invenção, por exemplo, frequentemente não só as dosagens podem ser mais pequenas como podem também ser aplicadas com menor frequência, o que pode diminuir a incidência ou

gravidade de efeitos secundários. Isto está de acordo com os desejos e necessidades dos doentes a serem tratados.

Os termos "co-administração" ou "administração combinada" ou semelhantes como utilizados aqui neste documento têm a intenção de englobar a administração dos agentes terapêuticos seleccionados a um único doente e têm a intenção de englobar regimes de tratamento nos quais os agentes não são administrados necessariamente pela mesma via de administração ou ao mesmo tempo.

É um objecto desta invenção providenciar uma composição farmacológica incluindo uma quantidade de uma combinação da invenção, a qual tem em conjunto um efeito terapêutico no combate ou prevenção de doenças proliferativas, especialmente GIST. Nesta composição, o agente (a) e agente (b) podem ser administrados juntamente, um depois do outro ou em separado numa forma de unidade de doseamento combinada ou em duas formas de unidade de doseamento separadas. A forma de unidade de doseamento pode também ser uma combinação fixa.

As composições farmacológicas para administração separada do agente (a) e agente (b) ou para a administração numa combinação fixa, *i.e.*, uma única composição galénica incluindo pelo menos dois parceiros de combinação (a) e (b), de acordo com a invenção podem ser preparadas numa forma conhecida *per se* e são aquelas adequadas para administração entérica, como seja oral ou rectal e paren-

térica a mamíferos (animais de sangue quente), incluindo humanos, incluindo uma quantidade terapeuticamente efectiva de pelo menos um só parceiro da combinação farmacologicamente activa, e.g., como indicado anteriormente ou em combinação com um ou mais excipientes ou diluentes farmacologicamente aceitáveis, especialmente adequados para administração entérica ou parentérica.

Combinações farmacologicamente aceitáveis contêm, por exemplo, desde cerca de 0,1 % até cerca de 99,9 % preferivelmente desde cerca de 1 % até cerca de 60 % da(s) substância(s) activa(s). Preparações farmacológicas para a terapia de combinação para administração entérica ou parentérica são, por exemplo, aquelas em formas de doseamento unitário, como sejam os comprimidos revestidos de açúcar, comprimidos, cápsulas ou supositórios ou ampolas. Se não for indicado em contrário, estas são preparadas numa forma conhecida *per se*, por exemplo por meio de técnicas de mistura convencional, granulagem, revestimento com açúcar, processos de dissolução ou liofilização. Será apreciado que o conteúdo da unidade de um parceiro da combinação contido numa dose individual de cada forma de doseamento não necessita de constituir por si uma quantidade efectiva, uma vez que a quantidade efectiva necessária pode ser conseguida pela administração de uma pluralidade de unidades de doseamento.

Em particular, uma quantidade terapeuticamente efectiva de cada um dos parceiros de combinação da

combinação da invenção pode ser administrada em simultâneo ou sequencialmente e em qualquer outra ordem e os componentes podem ser administrados separadamente ou numa combinação fixa. Por exemplo, o método de prevenir ou tratar doenças proliferativas de acordo com a invenção pode incluir (i) administração de um primeiro agente (a) na forma livre ou de sal farmacologicamente aceitável e (ii) administração de um agente (b) na forma livre ou de sal farmacologicamente aceitável, simultaneamente ou de forma sequencial em qualquer ordem, em quantidades terapêuticamente efectivas em conjunto, preferivelmente em quantidades efectivas de forma sinérgica, e.g., em doseamentos diários ou intermitentes correspondentes às quantidades descritas aqui neste documento. Os parceiros individuais de combinação da combinação da invenção podem ser administrados separadamente em tempos diferentes durante o curso da terapia ou de forma concorrente divididos em formas de combinação única. Além disso, o termo administração também engloba a utilização de um pró-fármaco de um parceiro da combinação que se converte *in vivo* no parceiro da combinação como tal. A presente invenção deve portanto ser entendida como englobando todos tais regimes de tratamento em simultâneo ou em alternativa e o termo "administração" deve ser interpretado em conformidade.

O doseamento efectivo de cada um dos parceiros da combinação utilizado na combinação da invenção pode variar dependendo do composto em particular ou combinação farmacológica utilizada, o modo de administração, a condição a ser

tratada, a gravidade da condição a ser tratada. Assim, o regime de doseamento da combinação da invenção é seleccionada de acordo com uma variedade de factores que incluem a via de administração e a função renal e hepática do doente. Um clínico ou médico com conhecimentos vulgares pode facilmente determinar e prescrever a quantidade efectiva das substâncias activas unitárias necessárias para aliviar, conter ou parar o progresso da condição. A precisão óptima para conseguir a concentração das substâncias activas dentro do intervalo que conduz à eficiência sem toxicidade requer um regime baseado na cinética da disponibilidade das substâncias activas para os locais alvo.

Os doseamentos diários para o agente (a) ou (b) irão, obviamente, variar dependendo de uma variedade de factores, por exemplo, o composto escolhido, a condição a ser tratada e o efeito desejado.

Preferivelmente, o composto 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil] benzamida, agente (a) é administrado oralmente, preferivelmente num doseamento diário de 1-300 mg/kg de peso corporal ou, para a maioria dos primatas maiores, um doseamento diário de 50-5000, preferivelmente 500-3000 mg. Um doseamento diário oral preferido é 1-75 mg/kg de peso corporal ou, para a maioria dos primatas maiores, um doseamento diário de 10-2000 mg, administrados como uma dose única ou dividida em doses múltiplas, como seja doseamento duplo diário.

O agente (b) pode ser administrado a um humano num intervalo de doseamento diário de 0,5 até 1000 mg. Formas de doseamento unitário adequadas para administração oral incluem desde ca. 0,1 até 500 mg de substância activa, juntamente com um ou mais diluentes ou excipientes farmacologicamente activos.

Na generalidade, no entanto, são conseguidos resultados satisfatórios na administração do agente (b) em velocidades de doseamento diário da ordem de ca. 0,03 até 5 mg/kg por dia, em particular 0,1 até 5 mg/kg por dia, e.g., 0,1 até 2,5 mg/kg por dia, como uma dose unitária ou em doses divididas. O agente (a) e o agente (b) podem ser administrados por qualquer via convencional, em particular entérica, e.g., oral, e.g., na forma de comprimidos, cápsulas, soluções bebíveis, ou via parentérica, e.g., na forma de soluções injectáveis ou suspensões, juntamente com um ou mais seus diluentes ou excipientes farmacologicamente aceitáveis.

A administração de uma combinação farmacológica da invenção não só resulta num efeito benéfico, e.g., um efeito sinérgico terapêutico, e.g., no que respeita à inibição da proliferação não regulada de ou abrandamento da progressão do crescimento de tumores, mas também em outros efeitos benéficos surpreendentes, e.g., menos efeitos secundários, uma qualidade de vida melhorada ou uma diminuição da morbilidade, quando comparado com uma mono



terapia que aplique só uma das substâncias farmacologicamente activas utilizadas na combinação da invenção.

Um outro benefício é que podem ser utilizadas doses menores das substâncias activas, por exemplo, que as doses não só frequentemente podem ser menores mas também aplicadas com menor frequência, ou podem ser utilizadas de forma a diminuir a incidência de efeitos colaterais. Isto está de acordo com os desejos e necessidades dos doentes a serem tratados.

#### B. Doenças a serem tratadas

O termo "doença proliferativa" inclui, mas não está restrita a tumores, psoríase, restenose, esclerodermite e fibrose.

O termo malignidade hematológica, refere-se em particular a leucemias, especialmente aquelas que expressam Bcr-Abl, c-Kit ou Fit-3 e inclui, mas não está limitado a leucemia mielogenosa crónica e leucemia linfocítica aguda (ALL), especialmente leucemia linfocítica aguda positiva ao cromossoma "Philadelphia" (Ph+ALL) bem como leucemia resistente a ST1571.

O termo "uma doença de tumor sólido" significa especialmente cancro dos ovários, cancro da mama, cancro do cólon e na generalidade do tracto gastrointestinal, cancro do colo do útero, cancro do pulmão, e.g., cancro das

células pequenas do pulmão e cancro das células não pequenas do pulmão, cancro da cabeça e pescoço, cancro da bexiga, cancro da próstata ou sarcoma de Kaposi.

As combinações de acordo com a invenção que inibem as actividades da proteína cinase mencionada, especialmente a proteína tirosina mencionada anteriormente e em seguida, podem portanto ser utilizadas no tratamento de doenças dependentes da proteína cinase. Doenças dependentes da proteína cinase são especialmente doenças proliferativas, preferivelmente tumores benignos ou especialmente malignos (por exemplo carcinoma dos rins, fígado, glândulas adrenais, bexiga, mama, estômago, ovários, cólon, recto, próstata, pâncreas, pulmões, vagina ou tiróide, sarcoma, glioblastomas e numerosos tumores do pescoço e cabeça, bem como leucemias). Elas são capazes de provocar a regressão de tumores e de prevenir a formação de metástases de tumores e o crescimento de (também micro) metástases. Adicionalmente podem ser utilizadas em hiperproliferação epidérmica (e.g., psoríase) em hiperplasia da próstata e no tratamento de neoplasias, especialmente de carácter epitelial, por exemplo, carcinoma da mama. Também é possível a utilização de combinações da presente invenção no tratamento de doenças do sistema imunitário desde que várias ou, especialmente, estejam envolvidas cinases individuais de proteína tirosina; além disso, as combinações da presente invenção podem também ser utilizadas no tratamento de doenças do sistema nervoso central ou periférico onde estiver envolvido a transmissão de sinal de

pelo menos uma cinase de proteína tirosina, especialmente seleccionada entre aquelas especificamente mencionadas.

Na leucemia mielogenosa crónica (CML), uma translocação cromossómica balanceada recíproca nas células estaminais hematopoiéticas (HSCs) produz o gene híbrido BCR-ABL. O último codifica a proteína de fusão oncogénica Bcr-Abl. Enquanto que ABL codifica uma cinase individuais de proteína tirosina ligeiramente regulada, a qual joga um papel fundamental na regulação da proliferação de células, aderência e apoptose, o gene de fusão BCR-ABL codifica como cinase constitutivamente activada, a qual transforma HSCs para produzir um fenótipo que exhibe proliferação clonal desregulada, reduzida capacidade para aderir ao estroma da medula óssea e reduz a resposta apoptótica ao estímulo mutagénico, que o permite acumular progressivamente mais transformações malignas. Os granulócitos resultantes não se desenvolvem para linfócitos adultos e são libertados na circulação, conduzindo a uma deficiência nas células adultas e susceptibilidade aumentada à infecção. Os inibidores competitivos ATP de Bcr-Abl têm sido descritos como preventivos na activação da cinase de vias mitogénicas e anti-apoptóticas (e.g., cinase P-3 e STAT5) conduzindo à morte das células de fenótipo BCR-ABL, providenciando em consequência uma terapia efectiva contra CML. As combinações da presente invenção são assim, especialmente apropriadas para a terapia de doenças relacionadas com a sua sobreexpressão, especialmente leucemias, como sejam leucemias, e.g., CML ou ALL.

A combinação da presente invenção inibe em primeiro lugar o crescimento dos vasos sanguíneos e é por isso, por exemplo, efectivo contra numerosas doenças associadas com a desregulação da angiogenese, especialmente doenças causadas por neovascularização ocular, especialmente retinopatias, como sejam retinopatia diabética ou degeneração da mácula relacionada com a idade, psoríase, hemangioblastoma, como seja hemangioma, distúrbios da proliferação de células mesangiais, como sejam doenças renais crónicas ou agudas, e.g., nefropatia diabética, nefrosclerose maligna, síndromas de microangiopatia trombótica ou rejeição de transplante ou especialmente doença renal inflamatória, como seja glomerulonefrite, especialmente glomerulonefrite mesangio-proliferativa, síndrome hemolítica-urémica, nefropatia diabética, nefrosclerose hipertensiva, ateroma, restenose técnica renal, doenças autoimunes, diabetes, endometriose, asma crónica e especialmente doenças neoplásicas (tumores sólidos, mas também leucemias e outras malignidades hematológicas), como sejam especialmente cancro da mama, cancro do cólon, cancro do pulmão (especialmente cancro das células pequenas do pulmão), cancro da próstata ou sarcoma de Kaposi. Combinações da presente invenção inibem o crescimento de tumores e são especialmente adequadas para prevenir o alastramento de metástases de tumores e o crescimento de micrometástases.

A invenção refere-se a um método de tratamento de mieloma, especialmente mieloma que é resistente a quimio-

terapia convencional. O termo "mieloma" como utilizado aqui neste documento, refere-se a um tumor composto de células do tipo normalmente encontradas na medula óssea. O termo "mieloma múltiplo" como utilizado aqui neste documento, significa um neoplasma maligno disseminado de células de plasma, o qual é caracterizado por múltiplos focos do tumor da medula óssea e segregação de um componente M (um fragmento monoclonal de imunoglobulina), associado com lesões osteolíticas espalhadas resultando em dor de ossos, fracturas patológicas, hipercalcémia e anemia normocrômica normocítica. O mieloma múltiplo não tem cura pela utilização de quimioterapia convencional e em doses elevadas. A invenção refere-se a um método de tratamento de mieloma, especialmente mieloma que é resistente a quimioterapia convencional.

#### Exemplo

Têm sido reportadas mutações na activação do receptor alfa do factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGFRA) num subconjunto de doentes com tumores do estroma gastrointestinal (GIST) que não expressam o receptor do factor das células estaminais mutantes, c-KIT. A resposta do GIST mutante, positivo a PDGFRA, para a imatinib, depende da localização da mutação de PDGFRA: por exemplo, a mutação V561 D no domínio da juxtamembrana é mais sensível a imatinib do que a mutação D842V no domínio cinase. Neste exemplo, são investigados os efeitos de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-

metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil] benzamida e imatinib [Composto (III)] em dois mutantes PDGFRA relacionados com GIST, V561 D e D842V, os quais possuem sensibilidades diferenciadas para imatinib.

As linhas celulares e células em cultura: Construções com D842V-, V561 D- e cDNA do (wt)-PDGFRA tipo selvagem são clonadas no pcDNA3,1 (obtidas de M.C. Heinrich, Oregon Health & Science University Cancer Institute, Portland, OR) são estavelmente transfectadas em células Ba/F3 por electroporação e células são seleccionadas por resistência à neomicina e crescimento independente de IL3. Todas as células crescem na presença de 5 % de CO<sub>2</sub> à temperatura de 37°C, numa concentração de 5x10<sup>5</sup> células/mL em meio cellgro RPMI 1640 (Mediatech, Inc. Herndon, VA), suplementado com 10 % de soro de bovino fetal (FCS; Harlan Bioproducts, Indianapolis, IN), 1 % de glutamina e penicilina/estreptomicina.

Inocularam-se as células parentais Ba/F3 ou wt-PDGFRA-Ba/F3 com meio condicional 15 % WEHI como uma fonte de IL-3. Inocularam-se todas as células transfectadas em meio suplementado com 1 mg/mL G418.

Anticorpos e "Imunoblotting": utilizou-se o Anti p-Tyr (clone 4G10, Upstate Biotechnology, NY) numa diluição de 1:1000 para "Imunoblotting". Utilizou-se anticorpo PDGFRA (c-20, Santa Cruz Biotechnology, CA) numa diluição de 1:200 para "Imunoblotting". Realizou-se a preparação do

lisado de proteínas e "Imunoblotting" como descrito previamente. Weisberg et al., Cancer Cell, 2002; 1: 433-443.

Estudos de proliferação: O ensaio de exclusão do azul de tripan tem sido anteriormente descrito (Weisberg et al., Cancer Cell, 2002; 1: 433-443) e é utilizado para todos os estudos de proliferação de células. Adicionaram-se o Composto II e imatinib em simultâneo em razões fixas tanto para células D842V- como V561 D-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3. Geraram-se curvas de resposta a dose e calcularam-se os índices de combinação como descrito em Weisberg et al. Cancer Cell 2005: 7, 129-141.

Estudos de imagiologia em murganhos *in vivo*: Transduziram-se células D842V-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3 com um retrovirus que codifica "luciferase firefly" (MSCV-Luc) e seleccionaram-se com puromicina numa concentração de 0,5  $\mu$ g/mL para gerar a linha celular D842V-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3-luciferase (luc+). Voltaram-se a suspender células livres de Micoplasma e contaminação viral em Solução Salina Balançada de Hank (HBSS; Mediatech, Inc., VA) antes da administração i.v. aos murganhos. Prepararam-se soluções de Composto II por dissolução de 200 mg em 1,0 mL de NMP para se obter uma solução clarificada e diluíram-se diariamente antes da administração com 9,0 mL de PEG300. Os murganhos placebo receberam veículo para o Composto II e são administrados com 30-45 minutos de intervalos.

Administrou-se um total de 600.000 células D842V-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3-luc+ por injeção na veia da cauda em murganhos machos NCR-nus (5-6 semanas de idade; Taconic, NY). Analisaram-se em imagem os murganhos e quantificou-se a luminescência corporal total como se descreveu anteriormente (Armstrong et al. Cancer Cell 2003; 3: 173-183). Utilizou-se a linha de base um dia depois da inoculação das células tumorais para estabelecer os coortes de tratamento com semelhança no peso do tumor. Trataram-se os coortes dos murganhos com administração oral do veículo, 150 mg/kg/dia Composto II (formulado como anteriormente; tratamento total 6 dias). Realizou-se a análise em imagem repetida a vários intervalos de tempo.

Efeitos de Combinação do composto II e Imatinib: D842V-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3:

Testaram-se combinações do composto II e Imatinib contra células D842V-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3.

Observaram-se efeitos globais de combinação positivos entre composto II e imatinib.

Análise calcusina dos efeitos combinados do composto II e imatinib sugerem sinergia até praticamente efeitos aditivos ao longo de um intervalo de doses (ED25-ED75), com antagonismo em ED90 (Tabela 1).



Efeitos de Combinação do composto II e Imatinib: V561 D:

Os efeitos de Combinação do composto II e Imatinib são avaliados contra V561 D-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3. Geralmente ambas as combinações levam a variados graus de antagonismo ao longo de uma gama de doseamento na linha celular V561 D-PDGFR $\alpha$ -Ba/F3 (Tabela 1)

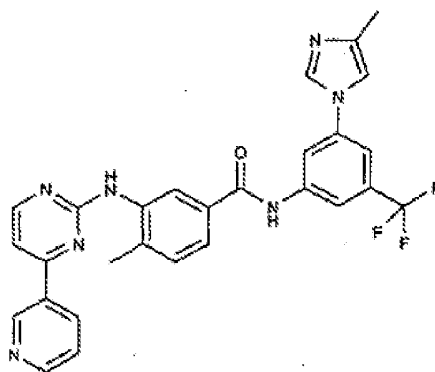
Tabela 1

Índices de Combinação calculados a partir de curvas de resposta a dose				
Linha Celular (Tratamentos)	ED25	ED50	ED75	ED90
D842V-ba/F3 (Composto II + imatinib)	0,48812	0,73221	1,09836	1,64762
V561 D-Ba/F3 (Composto II + imatinib)	0,80100	1,00712	1,81556	5,23012

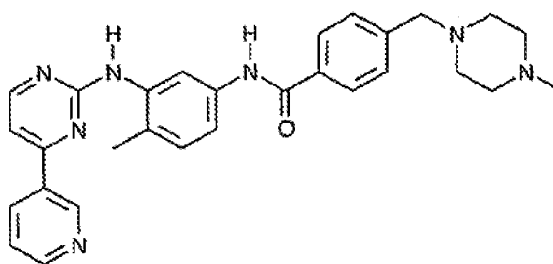
Lisboa, 12 de Abril de 2010

**REIVINDICAÇÕES**

1. Utilização de uma combinação de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil] benzamida, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, de fórmula:



e imatinib com a fórmula:



ou um seu sal farmacologicamente aceitável, para a preparação de um medicamento para o tratamento de tumores do estroma gastrointestinal.

Lisboa, 12 de Abril de 2010

**REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO**

*Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz ptécnica do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.*

**Documentos de patentes citadas na Descrição**

- WO 04005261 A
- EP 0564409 A
- US 5521184 A
- JP 2706662 B
- WO 9903854 A

**Literatura que não é de patentes citada na Descrição**

- J. Edmonson ; R. Marks ; J. Buckner ; M. Mahoney. Contrast of response to D-MAP+sargramostin between patients with advanced malignant gastrointestinal stromal tumors and patients with other advanced leiomyosarcomas. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 1999, vol. 18, 541a
- Weisberg et al. *Cancer Cell*, 2002, vol. 1, 433-443
- Weisberg et al. *Cancer Cell*, 2005, vol. 7, 129-141
- Armstrong et al. *Cancer Cell*, 2003, vol. 3, 173-183