

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 884 044**

(51) Int. Cl.:

**A61K 9/08** (2006.01)  
**A61K 47/10** (2007.01)  
**A61K 47/26** (2006.01)  
**A61K 31/535** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61K 9/19** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2007 PCT/US2007/088645**  
(87) Fecha y número de publicación internacional: **10.07.2008 WO08083101**  
(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2007 E 07869800 (8)**  
(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.05.2021 EP 2114157**

---

(54) Título: **Profármaco alquilante de fosforamidato para el tratamiento del cáncer**

(30) Prioridad:

**26.12.2006 US 871865 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**10.12.2021**

(73) Titular/es:

**IMMUNOGENESIS, INC. (100.0%)  
909 Fannin St Suite 2000  
Houston TX 77010, US**

(72) Inventor/es:

**AMMONS, STEVE;  
DUAN, JIAN-XIN;  
JUNG, DONALD y  
MATTEUCCI, MARK**

(74) Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**Observaciones:**

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

**ES 2 884 044 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**

Profármaco alquilante de fosforamidato para el tratamiento del cáncer

**5 Antecedentes de la invención**

**Campo de la invención**

La presente invención proporciona composiciones para usar en métodos de tratamiento del cáncer con profármacos activados por hipoxia solos y en combinación con otros agentes y terapias antineoplásicas, y por tanto está relacionada con los campos de la medicina, la farmacología, la química y la biología.

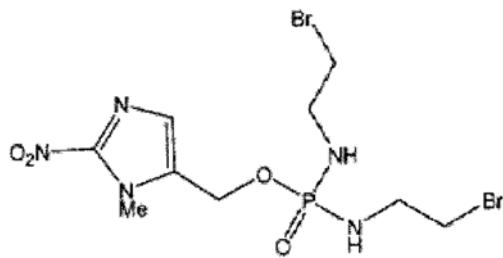
**Antecedentes**

El tratamiento del cáncer es un reto porque es difícil eliminar las células cancerosas sin afectar, o afectando en menor grado, a las células normales. Eliminar o afectar negativamente de otro modo a las células normales durante el tratamiento del cáncer puede causar efectos secundarios adversos en los pacientes. Las células cancerosas pueden diferir de ciertas células normales en su nivel de oxigenación, y pueden ser más hipóxicas que las células normales. En la actualidad existen ciertos agentes en clínica para el tratamiento del cáncer que se dirigen a las células cancerosas hipóxicas. Véanse, por ejemplo, las publicaciones de patente PCT n.º WO 00/64864, WO 04/087075, WO 07/002931 y la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n.º 2007/0032455. Sigue existiendo una necesidad de composiciones y métodos para el tratamiento del cáncer. La presente invención satisface estas necesidades proporcionando composiciones relacionadas con un profármaco alquilante de fosforamidato, TH302, y otros profármacos alquilantes de fosforamidato similares, como se resume a continuación.

25

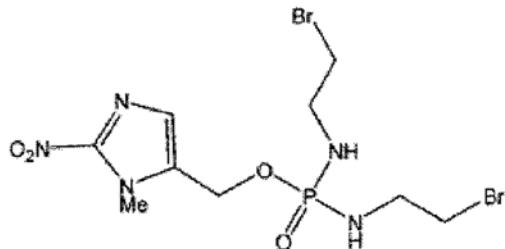
**Breve sumario**

En una realización, la presente invención proporciona una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende TH302 y etanol para usar en un método de tratamiento del cáncer mediante la administración intravenosa de TH302 en una cantidad en el intervalo de 4 mg/m<sup>2</sup> a 1.600 mg/m<sup>2</sup> a un paciente que necesita dicho tratamiento, en donde la formulación se diluye antes de la administración, y en donde la estructura del TH302 es:



TH302

35 En otra realización, la presente invención se refiere además al uso de una formulación que comprende TH302 y etanol para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, diluyendo la formulación y administrando la formulación por vía intravenosa a un paciente que necesita dicho tratamiento en una cantidad tal que el TH302 esté en el intervalo de 4 mg/m<sup>2</sup> a 1.600 mg/m<sup>2</sup>, y en donde la estructura del TH302 es:



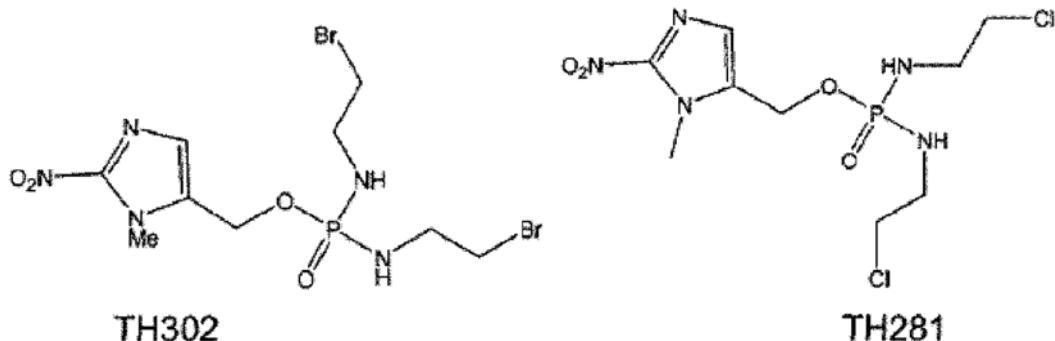
TH302

40

En un aspecto, la presente divulgación se refiere a formulaciones farmacéuticamente aceptables que comprenden el compuesto conocido como TH302, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. En un aspecto de la divulgación, la formulación farmacéuticamente aceptable comprende TH302 y, como excipiente, sacarosa. En otro aspecto, la divulgación proporciona una formulación estable

de TH302 que comprende TH302 y etanol. En varios aspectos, la solución comprende el TH302, etanol y no más del 5 % de cualquier otro disolvente, preferentemente no más del 2 %, más preferentemente no más del 1 %, lo más preferentemente no más del 0,5 % o no más del 0,1 % de un disolvente distinto del etanol. La formulación puede

- 5 actual (por ejemplo, en un hospitalizado) antes de la administración de un paciente. En algunos aspectos, la presente divulgación proporciona formulaciones farmacéuticamente aceptables que comprenden otros profármacos activados por hipoxia de alquilantes de fosforamidato que incluyen, por ejemplo, el compuesto conocido como TH281 y los descritos en el documento WO 07/002931. A continuación se muestran las estructuras de TH302 y TH281:



10 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una dosis unitaria de una formulación farmacéuticamente aceptable de TH302. En un aspecto, la dosis unitaria de la formulación farmacéuticamente aceptable comprende aproximadamente 25 mg - aproximadamente 250 mg o aproximadamente 50 mg - aproximadamente 150 mg de TH302. En un aspecto, la dosis unitaria comprende aproximadamente 100 mg de TH302. En un aspecto, la presente divulgación proporciona una formulación de dosis unitaria que contiene aproximadamente 100 mg de TH302 liofilizado. En un aspecto, la presente divulgación proporciona una formulación de dosis unitaria que contiene TH302 (por ejemplo, aproximadamente 100 mg) en etanol.

20 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento del cáncer, administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de TH302 en el intervalo de aproximadamente 4 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 1.600 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 8 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 800 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 16 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 400 mg/m<sup>2</sup>, o aproximadamente 32 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 200 mg/m<sup>2</sup> a un paciente que necesite dicho tratamiento. En un aspecto, el TH302 se administra por vía intravenosa (i.v.). En un aspecto, el TH302 se administra por vía oral. En un aspecto, la cantidad terapéuticamente eficaz de TH302 se administra con una  
25 frecuencia de al menos una vez al día, al menos una vez por semana, al menos una vez cada dos semanas o al menos una vez al mes. El TH302 puede administrarse durante un período de al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas o hasta al menos 24 semanas. En algunos aspectos, se emplean períodos de administración más largos.

30 En un aspecto, el cáncer tratado se selecciona entre cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de páncreas y cáncer de próstata. En otro aspecto, el cáncer tratado es un cáncer metastásico seleccionado del grupo que consiste en cáncer de médula ósea, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de ganglio linfático y cáncer de ovario.

35 En algunos aspectos, el TH302 se administra en combinación con otro agente antineoplásico seleccionado del grupo que consiste en cisplatino, carboplatino, docetaxel, paclitaxel, gemcitabina e irinotecán, o se administra en combinación con una terapia antineoplásica, tal como la radioterapia.

40 En un aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para el tratamiento del cáncer mediante la administración de formulaciones farmacéuticamente aceptables de la presente divulgación que comprenden profármacos alquilantes de fosforamidato activados por hipoxia distintos del TH302, que incluyen, por ejemplo, el TH281 y los descritos en el documento WO 07/002931.

45 Estos y otros aspectos y realizaciones se describen en las figuras adjuntas y en la descripción detallada de la invención.

## Breve descripción de las diversas vistas de los dibujos

La figura 1 muestra la fracción superviviente (SF) de los tumores tras el tratamiento con 50 mg/kg de TH302 con diferentes niveles de concentración de oxígeno. Véase el ejemplo 6, más abajo. Los diferentes símbolos representan animales individuales.

La figura 2 muestra la eficacia de la administración intravenosa de TH302 en el tratamiento del cáncer en ratones portadores de un xenoinjerto tumoral H460.

La figura 3 demuestra gráficamente que el TH302, administrado en combinación con radiación, tal como rayos X, mejora el efecto antineoplásico de los rayos X en el tratamiento del cáncer en ratones portadores de un xenoinjerto tumoral H460. Las flechas de la parte inferior del gráfico indican los días en los que se administró el fármaco y la radiación. Véase el ejemplo 9, más abajo.

5

## **Descripción detallada de la invención**

Esta descripción detallada está organizada en las siguientes secciones. La sección I proporciona las definiciones de los términos usados en el presente documento. La sección II describe las formulaciones farmacéuticamente aceptables 10 de la presente divulgación. La sección III proporciona los métodos de tratamiento de la presente divulgación. La sección IV proporciona formulaciones farmacéuticamente aceptables y métodos de tratamiento ilustrativos de los presentes métodos. Esta descripción detallada está organizada en secciones solo para la comodidad del lector, y la divulgación que se encuentra en cualquier sección es aplicable a la divulgación en cualquier otro sitio de la memoria descriptiva.

15

### I. Definiciones

Las siguientes definiciones se proporcionan para ayudar al lector. A menos que se definan de otro modo, todos los términos de la técnica, anotaciones y otros términos o terminología médica o científica que se usan en el presente 20 documento pretenden tener los significados comúnmente comprendidos por los expertos en la materia química y médica. En algunos casos, los términos con unos significados comúnmente comprendidos se definen en el presente documento con fines de claridad y/o para una referencia inmediata, y la inclusión de dichas definiciones en el presente documento no se debe considerar como representativa de una diferencia sustancial con respecto a la definición del término como se entiende generalmente en la técnica.

25

"Aproximadamente" se refiere a  $\pm$  20 % de una cantidad e incluye, por ejemplo,  $\pm$  15 %,  $\pm$  10 % y  $\pm$  5 % de la cantidad.

"Administrar" o "administración" de un fármaco a un paciente" (y los equivalentes gramaticales de esta expresión) se refiere a la administración directa, que puede ser la administración a un paciente por parte de un profesional médico 30 o puede ser la autoadministración, y/o la administración indirecta, que puede ser el acto de prescribir un fármaco. Por ejemplo, un médico que le indica a un paciente que se autoadministre un fármaco y/o que le proporciona una receta para un fármaco, está administrando el fármaco al paciente

"Cáncer" se refiere a leucemias, linfomas y otros tumores malignos con un crecimiento potencialmente ilimitado que 35 pueden expandirse localmente por invasión y sistémicamente por metástasis. Algunos ejemplos de cánceres incluyen, por ejemplo, cáncer de la glándula suprarrenal, de hueso, de cerebro, de mama, de bronquios, de colon y/o de recto, de vesícula biliar, de cabeza y cuello, de riñones, de laringe, de hígado, de pulmón, tejido neuronal, de páncreas, de próstata, paratiroideo, de piel, de estómago y de tiroides. Algunos otros ejemplos de cánceres incluyen tumores linfocíticos y granulocíticos agudos y crónicos, adenocarcinoma, adenoma, carcinoma basocelular, displasia cervical 40 y carcinoma localizado, sarcoma de Ewing, carcinomas epidermoides, tumor gigantocelular, glioblastoma multiforme, tumor de tricoleucocitos, ganglioneuroma intestinal, tumor hiperplásico del nervio corneal, carcinoma insulinoide, sarcoma de Kaposi, liomioma, leucemias, linfomas, carcinoma maligno, melanomas malignos, hipercalcemia maligna, tumor marfanoides, carcinoma bulbar, carcinoma de piel metastásico, neuroma mucoso, mieloma, micosis fungoide, neuroblastoma, osteosarcoma, osteogénico y otro sarcoma, tumor de ovario, feocromocitoma, policitemia vera, tumor 45 cerebral primario, tumor de pulmón microcítico, carcinoma epidermoide tanto de tipo ulceroso como papilar, hiperplasia, seminoma, sarcoma de tejidos blandos, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, tumor de células renales, lesiones tópicas cutáneas, reticulosarcoma y tumor de Wilms.

"Enfermedad hiperproliferativa" se refiere a una enfermedad caracterizada por la hiperproliferación celular (por 50 ejemplo, una tasa o cantidad de proliferación celular anormalmente aumentada). Algunos ejemplos de enfermedades hiperproliferativas distintas del cáncer incluyen, por ejemplo, vasculitis alérgica y granulomatosis (enfermedad de Churg-Strauss), asbestosis, asma, gastritis atrófica, hiperplasia prostática benigna, penífigo vesicular, enfermedad celíaca, bronquitis crónica y enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias, sinusitis crónica, enfermedad de Crohn, neuropatías desmielinizantes, dermatomiositis, eccema, incluyendo dermatitis atópica, enfermedades de la trompa de Eustaquio, arteritis gigantocelular, rechazo de injerto, neumonitis por hipersensibilidad, vasculitis por hipersensibilidad (púrpura de Henoch-Schonlein), dermatitis irritante, anemia hemolítica inflamatoria, neutropenia inflamatoria, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Kawasaki, esclerosis múltiple, miocarditis, miositis, pólipos nasales, enfermedades del conducto nasolagrimal, vasculitis neoplásica, pancreatitis, pénfigo vulgar, glomerulonefritis primaria, psoriasis, enfermedad periodontal, enfermedad renal poliquística, poliarteritis nodosa, síndrome mixto de poliangitis, colangitis esclerosante primaria, artritis reumatoide, enfermedad del suero, adherencias quirúrgicas, estenosis o reestenosis, escleritis, esclerodermia, estenosis de las vías biliares, estenosis (de duodeno, de intestino delgado y de colon), silicosis y otras formas de neumoconiosis, diabetes de tipo I, colitis ulcerosa, proctitis ulcerosa, vasculitis asociada a trastornos del tejido conectivo, vasculitis asociada a deficiencias congénitas del sistema del complemento, vasculitis del sistema nervioso central y granulomatosis de Wegener.

65

"Paciente" se refiere a un mamífero que necesita un tratamiento para el cáncer. En general, el paciente es un ser

humano. Un paciente puede ser un mamífero no humano, tal como un primate no humano, un perro, un gato, una vaca, un caballo, un conejo, un cerdo, o similares. Un paciente también puede ser de un animal no humano, tal como un ratón o una rata, que se usa en la preselección, la caracterización y la evaluación de fármacos y terapias.

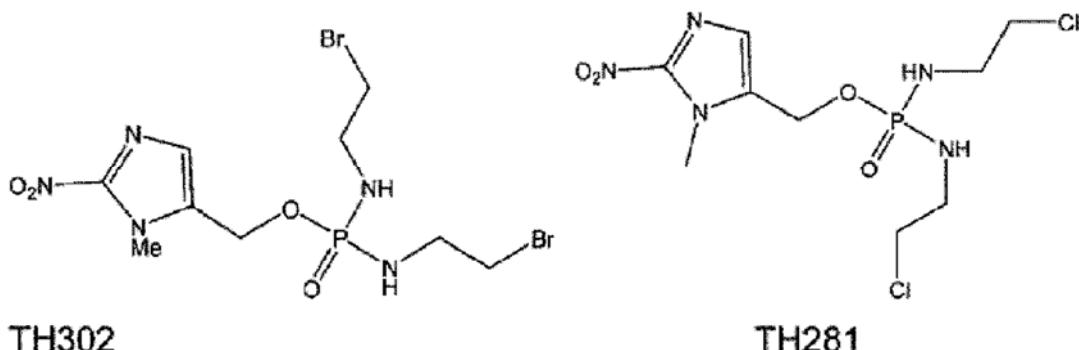
- 5 "Portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador, excipiente o diluyente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que generalmente es segura, no tóxica y no es biológicamente ni de otro modo indeseable, e incluye un portador, un excipiente o un diluyente que sea aceptable para el uso farmacéutico humano, así como para el uso veterinario. Un "portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable" incluye tanto uno como más de uno de dichos portadores, excipientes o diluyentes.
- 10 Se entiende una "sal farmacéuticamente aceptable" incluye las sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares que se encuentren en los compuestos descritos en el presente documento. Cuando los compuestos de la presente divulgación contienen funcionalidades relativamente ácidas, se pueden obtener sales de adición de base poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, pura o en un disolvente inerte adecuado. Algunos ejemplos de sales derivadas de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen de aluminio, de amonio, de calcio, de cobre, férricas, ferrosas, de litio, de magnesio, mangánicas, manganosas, de potasio, de sodio y de cinc. Algunas sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluyendo aminas sustituidas, aminas cíclicas y aminas naturales, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperadina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y trometamina. Cuando los compuestos de la presente divulgación contienen funcionalidades relativamente básicas, pueden obtenerse sales de adición de ácido poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, pura o en un disolvente inerte adecuado. Algunos ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos como los ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, yodhídrico o fosforoso, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como acético, propiónico, isobutírico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, mandélico, ftálico, bencensulfónico, p-tolilulfónico, cítrico, tartárico y metansulfónico. También se incluyen sales de aminoácidos tales como arginato, y sales de ácidos orgánicos como, por ejemplo, los ácidos glucurónico o galactúnico (véase, por ejemplo, Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Ciertos compuestos específicos de la presente divulgación contienen funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan en sales de adición tanto de base como de ácido. Las formas neutras de los compuestos se pueden regenerar poniendo en contacto la sal con una base o un ácido y aislando el compuesto precursor de la forma convencional. La forma precursora del compuesto difiere de las diversas formas salinas en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás, las sales son equivalentes a la forma precursora del compuesto para los fines de la presente invención.
- 40 "Profármaco" se refiere a un compuesto que, después de su administración, se metaboliza o se convierte de otro modo en un compuesto biológicamente activo o más activo (o fármaco) con respecto a al menos una propiedad. Un profármaco, con respecto al fármaco, está modificado químicamente de manera que se hace, con respecto al fármaco, menos activo o inactivo, pero la modificación química es tal que el fármaco correspondiente se genera mediante procesos metabólicos u otros procesos biológicos tras la administración del profármaco. Un profármaco puede tener, con respecto al fármaco activo, una alteración de la estabilidad metabólica o de las características de transporte, menos efectos secundarios o menor toxicidad, o un mejor sabor (por ejemplo, véase la referencia Nogradi, 1985, Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, Nueva York, páginas 388-392). Un profármaco puede sintetizarse usando reactivos distintos del fármaco correspondiente.
- 45 La "reducción" de un síntoma o síntomas (y los equivalentes gramaticales de esta expresión) se refiere a una reducción de la gravedad o la frecuencia del síntoma o síntomas, o a la eliminación del síntoma o síntomas.
- 50 La "cantidad terapéuticamente eficaz" de un fármaco se refiere a una cantidad de un fármaco que, cuando se administra a un paciente con cáncer u otra enfermedad hiperproliferativa, tendrá el efecto terapéutico previsto, por ejemplo, alivio, mejoría, atenuación o eliminación de una o más manifestaciones del cáncer o de otra enfermedad hiperproliferativa en el paciente. Un efecto terapéutico no se produce necesariamente por la administración de una dosis, y puede producirse únicamente tras la administración de una serie de dosis. Por lo tanto, puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz en una o más administraciones.
- 55 "Tratar" o "tratamiento" de una afección o de un paciente se refiere a realizar etapas para obtener unos resultados beneficiosos o deseados, incluyendo resultados clínicos. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, por ejemplo,, aliviar o mejorar uno o más síntomas del cáncer o de otra enfermedad hiperproliferativa; disminuir el alcance de la enfermedad; retrasar o ralentizar la progresión de la enfermedad; mejorar, atenuar o estabilizar el estado patológico; u otros resultados beneficiosos.
- 60

II. Formulaciones farmacéuticamente aceptables

En un aspecto, la presente divulgación se refiere a formulaciones farmacéuticamente aceptables que comprenden el compuesto conocido como TH302 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. El TH302 se describe en la publicación de solicitud de patente PCT n.º WO

5 07/002931. En un aspecto, la formulación farmacéuticamente aceptable comprende TH302 y, como excipiente, sacarosa. Dicha formulación de TH302 se describe en el ejemplo 1, a continuación. En otro aspecto, la formulación farmacéuticamente aceptable es un solución de TH302 o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en etanol. Dichas formulaciones estables en etanol de TH302 se describen en el ejemplo 2.

10 En un aspecto, la formulación farmacéuticamente aceptable comprende TH281 y, como excipiente, sacarosa. En otro aspecto, la formulación farmacéuticamente aceptable es un solución de TH281 o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en etanol. Las estructuras de TH302 y de TH281 se muestran a continuación:



TH302

TH281

15 En otros aspectos, la presente divulgación proporciona formulaciones farmacéuticamente aceptables que comprenden otros profármacos activados por hipoxia de los alquilantes de fosforamidato descritos en el documento WO 07/002931.

20 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una dosis unitaria de una formulación farmacéuticamente aceptable de TH302. En un aspecto, la dosis unitaria de la formulación farmacéuticamente aceptable comprende de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 250 mg de TH302, o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 150 mg de TH302. En un aspecto, la forma de dosis unitaria comprende aproximadamente 100 mg de TH302. En un aspecto,

25 la presente divulgación proporciona una dosis unitaria que contiene aproximadamente 100 mg de TH302 liofilizado. Una formulación adecuada farmacéuticamente aceptable de una dosis unitaria de TH302 se describe en el ejemplo 1, a continuación.

III. Métodos de tratamiento

30 En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para el tratamiento del cáncer, dicho método mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de TH302 en el intervalo de aproximadamente 4 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 1.600 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 8 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 800 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 16 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 400 mg/m<sup>2</sup>, o aproximadamente 32 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 200 mg/m<sup>2</sup> a un paciente que necesite dicho tratamiento. En otro aspecto, El TH302 puede administrarse a pacientes humanos en una cantidad terapéuticamente eficaz en el intervalo de aproximadamente 4 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 400 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 8 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 200 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 16 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 120 mg/m<sup>2</sup> o aproximadamente 32 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 80 mg/m<sup>2</sup>. Los estudios en animales que demuestran la administración terapéuticamente eficaz del TH302 con efecto antitumoral se describen en los siguientes ejemplos (por ejemplo, los ejemplos 4-9). En el ejemplo 13, a continuación, se describe un protocolo de ensayo clínico en seres humanos.

40 En un aspecto, el TH302 se administra por vía intravenosa. La administración i.v. eficaz del TH302 para el tratamiento del cáncer se describe gráficamente en la figura 2. En un aspecto, el TH302 se administra por vía oral. La biodisponibilidad oral eficaz del TH302 se describe en ejemplo 11.

45 En un aspecto, la cantidad terapéuticamente eficaz de TH302 se administra con una frecuencia de al menos una vez al día, al menos una vez por semana, al menos una vez cada dos semanas, hasta una vez al mes. En un aspecto, el TH302 se administra durante un período de al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, hasta al menos 24 semanas. En otros aspectos, se emplean períodos de administración más largos. Varias frecuencias y períodos de administración del TH302 para un tratamiento eficaz del cáncer de acuerdo con los presentes métodos se describen, por ejemplo, en los siguientes ejemplos 4-11 y 13.

En una realización, el cáncer tratado se selecciona entre cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de páncreas y cáncer de próstata. En otra realización, el cáncer tratado es un cáncer metastásico seleccionado del grupo que consiste en cáncer de médula ósea, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de ganglio linfático y cáncer de ovario.

5 En un aspecto, el TH302 se administra en combinación con otro agente antineoplásico seleccionado del grupo que consiste en cisplatino, carboplatino, docetaxel, paclitaxel, gemcitabina o irinotecán. En un aspecto, el TH302 se administra en combinación con una terapia antineoplásica, tal como radioterapia. La administración del TH302 en combinación con otro agente antineoplásico o una terapia antineoplásica se describe, por ejemplo, en los siguientes ejemplos 4-9.

10 En aspectos particulares, la divulgación proporciona un método de tratamiento de un paciente con cáncer de próstata mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de TH302 (por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 4 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1.600 mg/m<sup>2</sup>) al paciente. En un aspecto, el paciente también se trata 15 con docetaxel.

15 En otro aspecto particular, la divulgación proporciona un método de tratamiento de un paciente con cáncer metastásico mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de TH302 (por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 4 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1.600 mg/m<sup>2</sup>) al paciente. En un aspecto, el paciente también se trata 20 con irinotecán.

20 En un aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para el tratamiento del cáncer mediante la administración de las formulaciones farmacéuticamente aceptables descritas en el presente documento que comprenden profármacos alquilantes de fosforamido activados por hipoxia distintos del TH302, que incluyen, por ejemplo, el TH281 y los 25 descritos en el documento WO 07/002931.

25 La invención, que se ha descrito de forma resumida y detallada, se ilustra mediante los siguientes ejemplos, que proporcionan formulaciones farmacéuticamente aceptables de TH302 y demuestran la eficacia de la administración de TH302 para el tratamiento del cáncer de acuerdo con los presentes métodos.

#### 30 IV. Ejemplos

##### Ejemplo 1. Formulación de dosis unitaria liofilizada de TH302

35 Se añadió una solución (20 ml) de TH302 (100 mg) y sacarosa (1 g) a un vial de liofilización y se liofilizó para producir una forma de dosis unitaria liofilizada de TH302. Con fines de administración a seres humanos, se disolvió una forma de dosis unitaria en DW5 y se administró una cantidad apropiada de esta solución a pacientes.

##### Ejemplo 2. Formulación en etanol de TH302

40 El TH302 se disolvió en etanol absoluto para producir una formulación líquida farmacéuticamente aceptable del 5 % de TH302. Como se utiliza en el presente documento, una solución de TH302 al 5 % contiene 5 g de TH302 en 100 ml de disolvente (por ejemplo, etanol).

45 La estabilidad de una formulación en etanol de TH302 se demostró como sigue. Se preparó una formulación líquida de TH302 en etanol que contenía 1 mg de TH302 en 1 ml de la solución. Se extrajeron alícuotas de esta formulación y se diluyeron con etanol para producir una formulación de 40 µg/ml de TH302 en etanol, que se incubó a 20 °C y 37 °C, y cuya estabilidad se analizó mediante una cromatografía de líquidos de gran rendimiento (HPLC). La HPLC empleó los siguientes componentes y condiciones: columna (Alltech, Alltima C18, de 50 x 4,6, 3 µm), fase móvil (agua y acetonitrilo), caudal 0,8 ml/min, volumen de inyección (10 µl), detección (detección UV a 325 nm y 254 nm) y temperatura de la columna (temperatura ambiente). La composición de la fase móvil era como se tabula a continuación:

Tiempo (min)	% de agua	% de acetonitrilo
0,01	95	5
4,5	5	95
7,0	5	95
8,0	95	5
11,0	95	5

55 Los resultados de estabilidad se tabulan a continuación:

formulación de TH302 incubada (días)	TH302 (%)	
	37 °C	20 °C
0	96,97	96,97
3	96,95	96,98
5	96,98	96,91

		(continuación)	
		formulación de TH302 incubada (días)	
		37 °C	20 °C
7		96,98	96,96
10		96,30	96,95
14 24		96,01 95,46	96,98

Los resultados demuestran que, en las condiciones del ensayo, una solución de TH302 en alcohol etílico era estable a 20 °C.

5

#### Ejemplo 3. Demostración de los métodos de síntesis y/o de purificación del TH302

El TH302 puede sintetizarse y separarse del material de reacción no deseado como se describe en los ejemplos 6, 8 y 22-26 de la publicación de solicitud de patente PCT n.º WO 07/002931. Los eluyentes útiles para separar el TH302 mediante una cromatografía en columna incluyen el eluyente a base de acetona/tolueno descrito en el ejemplo 6 de la publicación de solicitud de patente PCT n.º WO 07/002931, *supra*, y 5 % de hexano/acetato de etilo-5 % de MeOH/acetato de etilo. De acuerdo con estos métodos, el TH302 de calidad API fue fabricado por Syngene, India. Estos métodos sintéticos pueden modificarse como se describe a continuación. Se puede usar POBr<sub>3</sub> como agente fosforilante en lugar de POCl<sub>3</sub>. Cuando se usa POCl<sub>3</sub> como agente fosforilante, la hidrólisis del intermedio, CIP(=O)(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br)<sub>2</sub> (1 equivalente) puede realizarse usando una solución acuosa de NaBr (10 equivalentes).

Ejemplo 4. Demostración de la eficacia del TH302 para el tratamiento del cáncer en combinación con irinotecán

El TH302 y el irinotecán (CPT-11) se formularon como sigue: el TH302 (7,5 mg/ml) en solución salina y el CPT-11 (5 mg/ml) en Tween80-solución salina al 2 %. Las formulaciones se filtraron a través de un filtro de 0,2 µm, después se administraron a animales en la hora siguiente a su preparación. Se prepararon células de cáncer colorrectal humano HT29 en 50 % de matriz y 50 % de medio RPMI 1640 y se implantaron ( $3 \times 10^6$  células) en el espacio subcutáneo del costado derecho de 90 ratones (0,2 ml/ratón). Los volúmenes tumorales alcanzaron aproximadamente 160 mm<sup>3</sup> el día 12 después de la implantación. Se eligieron setenta y dos animales con un tamaño de tumor similar para el tratamiento después de la aleatorización. Los ratones restantes se usaron como control sin tratamiento.

A los ratones se les administró el TH302 por vía intravenosa a 75 mg/kg, una vez por semana durante 2 semanas (Q7Dx2, i.v.), solo y en combinación con CPT-11, administrado a 50 mg/kg, (Q7Dx3, por vía intraperitoneal (i.p.)). Ninguno de los grupos de ratones tratados mostró una pérdida de peso corporal inesperada. Después de iniciar la administración, los volúmenes tumorales se midieron dos veces por semana. El día 29 se produjo una inhibición del crecimiento tumoral del 59 % en los tumores de los ratones sometidos al tratamiento combinado en comparación con la de los ratones de control, a los que se les administró el vehículo (DMSO al 5 %, Tween80-D5W al 5 %, Tween80-salino al 2 %). En los ratones a los que se les administró el CPT-11 solo, es decir, aquellos en monoterapia con CPT-11, se observó una inhibición del crecimiento tumoral del 41 % en comparación con el grupo de ratones de control.

Puede estimarse una dosis eficaz para la administración en seres humanos a partir de una dosis en ratones dividiendo la dosis en ratones por 12,3. Por lo tanto, en una realización, de la presente invención, el TH302 puede administrarse a seres humanos para el tratamiento del cáncer en una cantidad de aproximadamente 75/12,3 mg/kg o aproximadamente 6 mg/kg. Una dosis en seres humanos en mg/kg puede convertirse en mg/m<sup>2</sup> multiplicando la dosis en mg/kg por 40. Por lo tanto, en una realización, de la presente invención, el TH 302 puede administrarse en una cantidad de aproximadamente 240 mg/m<sup>2</sup> al ser humano para el tratamiento del cáncer. Usando el mismo factor de conversión, las dosis de TH302 eficaces para el tratamiento del cáncer en seres humanos pueden estimarse a partir de las dosis eficaces obtenidas para los ratones, como se describe en los ejemplos 2-9.

#### Ejemplo 5. Demostración de la eficacia del TH302 para el tratamiento del cáncer de ovario

A 40 ratones atípicos se les implantaron por vía subcutánea células de cáncer de ovario humano IGROV1 ( $5 \times 10^6$  células/ratón). Los volúmenes tumorales se midieron dos veces por semana a partir del día 7. El día 8, los volúmenes tumorales alcanzaron aproximadamente  $97,7 \pm 3,9$  mm<sup>3</sup>. Los ratones se distribuyeron al azar en 3 grupos de tratamiento a los que se les administró lo siguiente: CDDP (4 mg/kg, ip, Q7Dx2), CDDP (6 mg/kg, i.p. Q7Dx2) y TH302 (75 mg/kg, i.v., Q7Dx2). A un grupo de ratones de control se les administró solución salina. Mientras que el tratamiento con CDDP a ambas dosis no mostró una reducción significativa del volumen tumoral, el tratamiento con TH302 mostró una inhibición significativa del crecimiento ( $P < 0,05$ ). Cuarenta y cinco días después de la primera administración de TH302, la inhibición del crecimiento tumoral era del 66 %. El retraso en el crecimiento tumoral (hasta 300 mm<sup>3</sup>) era de 19 días. Los ratones mostraron un aumento de peso corporal durante el período de tratamiento, lo que demuestra que la administración de TH302 era segura en la cantidad administrada. Este ejemplo demuestra la eficacia del TH302 por sí solo, es decir, como monoterapia, en el tratamiento del cáncer de ovario.

#### Ejemplo 6. Demostración de la eficacia del TH302 para eliminar células tumorales hipoxicas

Se prepararon células H460 de cáncer humano no microcítico (NSCLC) en matriz al 30 % o al 50 % en medio PRIM.

A continuación, se implantaron  $2 \times 10^6$  células suspendidas en matriz al 50 % por vía subcutánea en el costado derecho en 35 ratones (0,2 ml/ratón), de forma similar, se implantaron  $0,5 \times 10^6$  células suspendidas en matriz al 30 % en 30 ratones. Los ratones portadores de tumores con un tamaño similar, preferentemente de ~300 mm<sup>3</sup>, se seleccionaron para la administración de TH302. El TH302 se formuló en solución salina y se administró una dosis única de 50 mg/kg por vía intravenosa.

Los ratones se colocaron en una cámara con un 95 % y un 10 % de O<sub>2</sub> durante 30 minutos antes de la administración, y se devolvieron a la cámara durante 2 horas inmediatamente después del tratamiento. Veinticuatro horas después del tratamiento, se extrajeron los tumores. El tejido tumoral se troceó y se obtuvieron células individuales digiriendo el tejido troceado con un cóctel enzimático durante 15 minutos a 37 °C con agitación, y filtrando a través de una malla estéril de 40 µm. El número de células se contó con un contador coulter. Después de una dilución en serie, las células se colocaron en una placa de Petri de 60 o 100 mm y se incubaron a 37 °C durante 8 a 10 días para que se formaran las colonias. Las colonias se contaron después de teñirlas con violeta de cristal (0,25 % en etanol al 95 %). La eficacia de la siembra (PE) se calculó dividiendo el número de colonias formadas entre el número de células sembradas. La fracción superviviente (SF) se calculó dividiendo como la PE de las células tratadas entre la PE de las células del control con solución salina.

Los resultados se describen en la figura 1, a continuación. Las células tumorales obtenidas de los tumores de ratones que respiraban un 95 % de O<sub>2</sub> demostraron la mayor SF. La media de las SF fue del 5,76 %, 2,58 % y 50,38 % para las células tumorales obtenidas de los tumores de ratones que respiran 21 % de O<sub>2</sub>, 10 % de O<sub>2</sub> y 95 % de O<sub>2</sub>, respectivamente. Los resultados demuestran que, *in vivo*, con una hipoxia creciente, la eficacia antitumoral del TH302 aumenta.

Ejemplo 7. Demostración de la eficacia del TH302 para el tratamiento de tumores de próstata implantados ortotópicamente

Este experimento demuestra la eficacia del TH302, en el tratamiento del tumor de próstata humano PC-3 que fue implantado ortotópicamente en ratones. Los tumores implantados ortotópicamente son invasivos y matan a los animales portadores de tumores no tratados. En el modelo ortotópico de próstata PC3 con proteína verde fluorescente (GFP), el experimento se llevó a cabo de manera similar a la descrita en el ejemplo 55 del documento WO 07/002931, y con Taxotere® (12 mg/kg) en lugar de gemcitabina, que se administró una vez por semana durante dos semanas. La administración del TH302 dio como resultado un retraso del crecimiento tumoral (TGD) de 16 días y una reducción del volumen tumoral del 84 % en comparación con las mediciones finales en el grupo con vehículo (día 31). La administración de Taxotere® solo dio como resultado un TGD de 31 días y a una regresión de los tumores hasta 21 ± 15 mm<sup>3</sup>, mientras que los tumores tratados con TH302 en combinación con Taxotere® remitieron hasta 16 ± 8 mm<sup>3</sup>. Los tumores de los ratones sometidos al tratamiento combinado nunca alcanzaron un volumen de 500 mm<sup>3</sup>. Más allá del día 31, los tumores tratados con Taxotere® comenzaron a crecer, alcanzando un volumen de 766 mm<sup>3</sup> el día 62. Los tumores de los ratones sometidos al tratamiento combinado mostraron un mejor pronóstico en comparación con el tratamiento con Taxotere® solo, y alcanzaron un volumen de 180 mm<sup>3</sup> ( $P < 0,01$  frente a Taxotere® solo). 4 de los 8 ratones tratados con una combinación de TH302 y Taxotere® no mostraron una expresión detectable de la GFP y se consideraron curados. Estos resultados demostraron que el TH302 en combinación con quimioterapia era eficaz en el tratamiento y la curación del cáncer.

Ejemplo 8. Demostración de la eficacia del TH302 contra el cáncer metastásico

Este ejemplo demuestra la eficacia del TH302 en el tratamiento de micrometástasis en hueso y tejidos blandos cuando se administra en combinación con Taxotere® (Docetaxel, Sanofi Aventis). En el ventrículo izquierdo de ratones atípicos macho se injectaron células de próstata humana PC-3 ( $3 \times 10^6$ ) transfectadas con el gen de la luciferasa. El éxito de las transfecciones intracardíacas se verificó mediante una exploración de bioluminiscencia tras la inyección. El día 14, los ratones con carga tumoral ósea establecida se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos de tratamiento ( $N = 10$ ): Taxotere® solo (20 mg/kg una vez por semana durante tres semanas, i.v.), TH302 solo (50 mg/kg diarios, 5 días a la semana durante 3 semanas), el tratamiento combinado con ambos agentes y el vehículo. Las imágenes de bioluminiscencia se obtuvieron bajo anestesia usando un sistema de obtención de imágenes ópticas IVIS 50.

La carga de tumores óseos y blandos (principalmente pulmones e hígado) aumentó con el tiempo, aproximadamente 1.000 veces, en el grupo con vehículo. Todos los ratones tratados con vehículo perdieron peso por la progresión de la enfermedad y murieron a los 29 días del inicio del tratamiento. Los ratones tratados solo con TH302 mostraron una reducción significativa de las metástasis óseas (94 %) y de la carga tumoral en los tejidos blandos (95 %) al final del estudio (día 43). Hubo una pérdida de peso mínima que sugiere una reducción global de la progresión de la enfermedad. Los ratones tratados con Taxotere® solo mostraron una reducción significativa de las metástasis óseas y de la carga tumoral en los tejidos blandos en comparación con el vehículo. El tratamiento con Taxotere®, en promedio, impidió la progresión de la enfermedad durante la mayor parte del estudio y dio como resultado algunas regresiones, pero dio como resultado una pérdida de peso y la muerte relacionada con la toxicidad.

El tratamiento de combinación se asoció con una sorprendente reducción persistente de las metástasis óseas y de la

carga tumoral metastásica de tejidos blandos más allá del periodo de administración. Toda la bioluminiscencia había desaparecido el día 29 y se mantuvo en cero hasta el final del estudio. Las toxicidades en el grupo de combinación eran similares a las observadas en el grupo con Taxotere®. Por lo tanto, el TH302 no mostró ninguna toxicidad más allá de las toxicidades relacionadas con el Taxotere®. La tinción con H&E de las muestras del grupo con vehículo

5 mostró la existencia de grandes focos metastásicos que sobresalían del hueso, mientras que los animales tratados con la terapia de combinación presentaban una morfología con pocas, en caso de que las hubiera, células tumorales visibles.

10 Estos resultados demuestran que el TH302 solo es eficaz en este modelo mortal agresivo de enfermedad metastásica de la próstata. La combinación de TH302 con Taxotere® era eficaz para erradicar las metástasis en los tejidos óseos y blandos, según las mediciones. Por lo tanto, una combinación de TH302 y Taxotere® puede ser útil para el tratamiento de la enfermedad metastásica asociada al cáncer de próstata.

15 También se cultivaron tumores metastásicos en ratones mediante la inyección de células cancerosas H460 NSCLC en la cavidad pleural. Se observaron metástasis, entre otros órganos, en los pulmones y el ovario. El tratamiento de estos ratones portadores de tumores metastásicos con TH302 solo (Q3Dx5, 100 mg/kg, i.v.) mostró una reducción visible de la masa tumoral metastásica. Por lo tanto, el TH302 es eficaz en el tratamiento de tumores metastásicos cuando se administra solo y en combinación con otro agente antineoplásico.

20 Ejemplo 9. Demostración de la eficacia del TH302 para el tratamiento del cáncer en combinación con radiación

Se trataron ratones portadores del tumor xenoinjertado H460 con radiación de rayos X (un ciclo de 1,2 Gy/día durante 5 días) sola y en combinación con TH302 (administrado por vía ip, 75 mg/kg al día durante 5 días consecutivos 30 min después de cada dosis de radiación). Los resultados se muestran en la figura 3. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, la radioterapia es menos eficaz para eliminar las células tumorales hipoxicas en comparación con las células tumorales normoxicas. Los radicales de oxígeno implicados en la eliminación de las células tumorales y que se generan por la irradiación de oxígeno, por ejemplo, en condiciones normoxicas, no puede formarse eficazmente en condiciones de hipoxia. Por lo tanto, este ejemplo demuestra que, cuando se administra TH302 en combinación con radioterapia para eliminar las células tumorales, mejora la eficacia antitumoral de la radiación para el tratamiento de tumores sólidos.

Ejemplo 10. Demostración de la administración segura de TH302 a ratas y perros

35 Se administró una dosis única de TH302 a ratas y perros durante 30 minutos con el fin de lograr un rápido aumento hasta unos niveles de fármaco relativamente altos. A las ratas se les administraron 50, 100 y 200 mg/kg, y a los perros 8, 16 y 32 mg/kg de TH302. La toxicidad específica de la especie a la dosis más alta se observó en la adiposidad y el bazo de la rata. Tanto en ratas como en perros, en el nivel de toxicidad más bajo de los estudios de dosis única, los principales hallazgos fueron una reducción en el hemograma de glóbulos blancos acompañada únicamente de una pérdida de peso moderada en las ratas macho. Estos cambios al nivel de toxicidad más bajo fueron totalmente reversibles en 2 semanas. A las dosis más altas de 200 mg/kg en ratas y de 32 mg/kg en perros, se observó mortalidad, siendo los órganos afectados en cada especie la médula ósea, el riñón, el timo y el intestino.

40 Tomando como base estos resultados, se administraron dosis de 12,5, 25 y 50 mg/kg de TH302 en un estudio de toxicidad GLP con dosis múltiples en ratas. Cada rata recibió una infusión de 30 minutos una vez por semana durante tres semanas (Q7Dx3). Las toxicidades primarias fueron de naturaleza hematológica y fueron reversibles. Estos efectos fueron pronunciados únicamente con la dosis más alta (50 mg/kg), a la cual la histopatología reveló efectos en la médula ósea y la lengua, con efectos menores en el riñón y el útero.

50 En el estudio GLP de dosis repetidas con perros, que recibían 4, 8 y 16 mg/kg de TH-302, la leucopenia y la neutropenia eran evidentes, particularmente al nivel de dosis alto, donde también se informó de hipocelularidad en la médula ósea. Estos cambios eran reversibles.

55 Las dosis tóxicas mínimas se determinaron en 25 mg/kg para la rata y 8 mg/kg para el perro. Una dosis en ratas puede convertirse en una dosis equivalente estimada en seres humanos dividiendo la dosis para ratas entre 6,2. Una dosis en perros puede convertirse en una dosis equivalente estimada en seres humanos dividiendo la dosis para perros entre 1,8. Por lo tanto, una dosis para ratas de 25 mg/kg corresponde a una dosis equivalente seres para humanos de aproximadamente 4 mg/kg, y una dosis para perros de 8 mg/kg corresponde a una dosis equivalente para seres humanos de aproximadamente 4,5 mg/kg.

60 Como se demuestra en este ejemplo, en otras realizaciones más de la presente invención, el TH302 puede administrarse con seguridad y eficacia terapéutica a un paciente humano para el tratamiento del cáncer a una dosis en la cantidad de aproximadamente 0,1 mg/kg - aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 0,2 mg/kg - aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 0,4 mg/kg aproximadamente 10 mg/kg o aproximadamente 0,8 mg/kg - aproximadamente 5 mg/kg, para el tratamiento del cáncer en seres humanos. En otras realizaciones más de la presente invención, el TH302 puede administrarse con seguridad y eficacia terapéutica a un paciente humano para el tratamiento del cáncer a una dosis en la cantidad de aproximadamente 0,1 mg/kg - aproximadamente 10 mg/kg,

aproximadamente 0,2 mg/kg - aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 0,4 mg/kg - aproximadamente 3 mg/kg y aproximadamente 0,8 mg/kg - aproximadamente 2 mg/kg para el tratamiento del cáncer en seres humanos.

La cantidad terapéuticamente eficaz de un agente antineoplásico puede expresarse en unidades de mg/m<sup>2</sup>. Una dosis de 1 mg/kg equivale a aproximadamente 70 mg/paciente. La superficie estimada de un paciente humano medio es de aproximadamente 1,7 m<sup>2</sup>. Por lo tanto, una dosis de 1 mg/kg o de 70 mg/paciente equivale aproximadamente a una dosis de 70/1,7 mg/m<sup>2</sup> o de 40 mg/m<sup>2</sup>. Por lo tanto, una dosis humana estimada en mg/kg puede multiplicarse por 40 y convertirse en una dosis humana en mg/m<sup>2</sup>. Por lo tanto, en una realización, el TH302 puede administrarse a pacientes humanos en una cantidad terapéuticamente eficaz de aproximadamente 4 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 1.600 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 8 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 800 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 16 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 400 mg/m<sup>2</sup> y aproximadamente 32 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 200 mg/m<sup>2</sup>. En otra realización, el TH302 puede administrarse a pacientes humanos en una cantidad terapéuticamente eficaz de aproximadamente 4 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 400 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 8 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 200 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 16 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 120 mg/m<sup>2</sup> y aproximadamente 32 mg/m<sup>2</sup> - aproximadamente 80 mg/m<sup>2</sup>.

Una dosis de 25 mg/kg de TH302 en ratas mostró una exposición al fármaco, medida por el AUC del TH302, de aproximadamente 2110 h x nanogramo (ng)/ml. Una dosis de 8 mg/kg de TH302 en perros mostró una exposición al fármaco de aproximadamente 1910 h x ng/ml (véanse los datos tabulados a continuación). Por lo tanto, en ciertas realizaciones de la presente invención, el TH302 puede administrarse con seguridad en humanos para el tratamiento del cáncer, en donde la exposición es de aproximadamente 500-aproximadamente 14.000 h x ng/ml. El AUC medido para la toxina activa, el Br-IPM, era de aproximadamente 97 h x ng/ml en ratas y de aproximadamente 21,8 h x ng/ml en perros. Por lo tanto, en un aspecto, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento del cáncer mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco de Br-IPM a un paciente que necesite de dicho tratamiento, en donde dicha cantidad terapéuticamente eficaz del profármaco de Br-IPM proporciona un AUC de aproximadamente 10-1.000 h x ng/ml de Br-IPM en plasma.

La tabla 1 muestra los parámetros farmacocinéticos del TH302 determinados el día 15 tras la administración repetida de TH302 (Q7Dx3) a ratas de acuerdo con el ejemplo 10.

30

Tabla 1

Parámetro	Dosis (mg/kg):	Día 15		
		12,5	25	50
C <sub>máx</sub>	(μg/ml)	1,21	3,64	5,72
AUC	(μg·h/ml)	0,699	2,11	3,25
Semivida	(h)	0,266	0,312	0,346
Cl	(l/h/kg)	17,6	16,5	11,8
V <sub>ss</sub>	(l/kg)	8,71	8,28	5,84

La tabla 2 muestra los parámetros farmacocinéticos del bromo-IPM (HO-P(=O)(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br)<sub>2</sub>) determinados tras la administración repetida de TH302 (Q7Dx3) a ratas de acuerdo con el ejemplo 10. Al ser el Br-IPM capaz de reaccionar con el agua y con otros nucleófilos diversos, para el análisis por HPLC del Br-IPM, el plasma obtenido se congeló y se trató con NaF y oxalato de potasio.

35

Tabla 2

Parámetro	Dosis (mg/kg):	Día 15		
		12,5	25	50
C <sub>máx</sub>	(μg/ml)	0,286	0,375	0,385
AUC	(μg·h/ml)	0,107	0,0970	0,143
Semivida	(h)	0,148	0,138	0,383

La tabla 3 muestra los parámetros farmacocinéticos del TH302 determinados tras la administración repetida de TH302 (Q7Dx3) a perros de acuerdo con el ejemplo 10.

40

Tabla 3

Parámetro	Dosis (mg/kg):	Día 15		
		4	8	16
C <sub>máx</sub>	(μg/ml)	1,58	3,65	7,10
AUC	(μg·h/ml)	0,853	1,91	4,26
Semivida	(h)	0,271	0,253	0,284
Cl	(l/h/kg)	4,84	4,35	3,82
V <sub>ss</sub>	(l/kg)	2,10	1,78	1,93

La tabla 4 muestra los parámetros farmacocinéticos del bromo-IPM (HO-P(=O)(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br)<sub>2</sub>) determinados tras la administración repetida de TH302 (Q7Dx3) a perros de acuerdo con el ejemplo 10.

Tabla 4

Parámetro	Dosis (mg/kg):	Día 15		
		4	8	16
$C_{\text{máx}}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )		0,00	0,0627	0,146
$AUC_{1as1}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ )		0,00	0,0218	0,0607
Semivida (h)		NC	NC	0,305

Ejemplo 11. Demostración de la farmacocinética (PK) del TH302

- 5 Se realizaron estudios farmacocinéticos en ratones CD-1 macho (50 mg/kg i.p. o por vía oral (p.o.)) o en ratones atípicos hembra (50 mg/kg i.v. o i.p.), ratas Sprague-Dawley macho (1, 5, 20 y 50 mg/kg i.v. y 100 mg/kg, p.o.), perros Beagle (20 mg/kg, i.v.) y macacos cangrejeros (20 mg/kg i.v.). Las concentraciones plasmáticas de TH302 se analizaron usando un método CL/EM y los parámetros farmacocinéticos se calcularon usando un método no compartimental. El aumento de escala interespecie se realizó de acuerdo con métodos convencionales. En los ratones 10 CD-1, las concentraciones plasmáticas de TH-302 disminuyeron con unas semividas terminales ( $t_{1/2}$ ) de 7,9 y 25,7 min y 91 min después de 50 mg/kg i.p. y p.o., respectivamente, y con un  $t_{1/2}$  de 8,2 y 9,7 minutos tras 50 mg/kg i.v. y p.o., respectivamente, en los ratones atípicos. El aclaramiento corporal total (Cl) y el volumen de distribución en equilibrio aparente ( $V_{ss}$ ) en ratones atípicos eran de 4,37 l/h/kg y 0,542 l/kg, respectivamente. En ratas, el TH302 presentó una farmacocinética lineal a lo largo del intervalo de dosis estudiado. El  $t_{1/2}$  plasmática terminal medio variaba entre 1,32-15 4,37 h tras la dosis i.v. El Cl medio era alto (4,69-6,14 l/h/kg) y el  $V_{ss}$  medio era grande (1,67-5,09 l/kg). Después de la administración p.o., el TH302 se absorbió rápida y sustancialmente, alcanzando una concentración plasmática máxima media en el primer punto temporal muestrado de 15 minutos y una biodisponibilidad oral absoluta del 77,3 %. El  $t_{1/2}$  plasmático terminal del TH-302 era de 1,59 h.
- 20 Despues de una administración i.v. en perros, el Cl y el  $V_{ss}$  medios eran de 3,28 l/h/kg y 1,98 l/kg, respectivamente. El  $t_{1/2}$  medio era de 49,2 min. En los monos, el TH302 tenía un Cl elevado (7,66 l/h/kg) y un gran  $V_{ss}$  (2,92 l/kg). El  $t_{1/2}$  plasmático era de 24,9 min. El escalado entre especies mediante un análisis complejo de Dredick predice un Cl y un  $V_{ss}$  de 109 l/h y 493 l para un ser humano de 70 kg. El TH-302 mostró una farmacocinética lineal y una excelente biodisponibilidad oral. En todas las especies a las que se le administró, el TH-302 mostró un elevado Cl y un gran  $V_{ss}$ . 25 El elevado aclaramiento observado indica que puede haber implicada una vía de aclaramiento extrahepática. Las partes A, B y C, a continuación, tabulan la farmacocinética del TH302 cuando se administra a ratas, perros y monos.

A. Demostración de la farmacocinética del TH302 en ratas

- 30 El TH302 se disolvió en PEG400/solución salina al 50 % para obtener una concentración final de 25 mg/ml, y luego se diluyó adicionalmente para producir formulaciones de 25, 10, 2,5 y 0,5 mg/ml de TH302 ( $\text{pH} \approx 6$ ). Las formulaciones se prepararon justo antes de la administración. La concentración de TH302 en la solución de administración se confirmó mediante HPLC-UV. En este estudio se usaron ratas Sprague Dawley macho (peso corporal: de 200 g a 230 g). Antes de los estudios farmacocinéticos, los animales fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos de tratamiento con canulación en la arteria carótida para la toma de muestras de sangre en serie. A todas las ratas se les administró una única dosis intravenosa en embolada durante un minuto a través de la vena de la cola. Las concentraciones plasmáticas de TH302 se determinaron usando un método de cromatografía de líquidos de gran rendimiento/espectrometría de masas (HPLC/EM/EM). Tras la administración intravenosa en embolada a unas dosis de 1,5, 20 y 50 mg/kg, el TH302 mostró una farmacocinética lineal con una fase de distribución rápida seguida de una fase de eliminación más lenta. Los resultados se tabulan a continuación. Los resultados demostraron que, hasta 40 8 mg/kg de dosis diaria equivalente en seres humanos, el TH302 mostró una farmacocinética lineal, y que la exposición de TH302, demostrada por su AUC, era de aproximadamente 8.500.

Tabla 5 Parámetros farmacocinéticos del TH302 en ratas tras una administración intravenosa a cuatro dosis

Número de Animal	Parámetros farmacocinéticos								
	$AUC_{(0-t)}$ h x ng/ml	$AUC_{(0-\infty)}$ h x ng/ml	MRT h	$T_{1/2}$ h	$V_{\beta}$ l/kg	Cl l/h/kg	$V_{ss}$ l/kg	$T_{\text{máx}}$ h	$C_{\text{máx}}$ ng/ml
(1 mg/kg)									
1	202,22	203,34	0,69	2,18	15,45	4,92	1,49	0,03	732,20
2	174,91	178,44	0,95	1,75	14,19	5,60	1,83	0,03	682,78
3	273,70	282,01	1,03	2,16	11,03	3,55	2,82	0,03	990,12
MEDIA	216,94	221,26	0,89	2,03	13,55	4,69	2,05	0,03	801,70
DE	5 1,01	54,06	0,18	0,24	2,27	1,05	0,69	0,00	165,04
(5 mg/kg)									
4	730,07	731,71	0,45	1,22	11,99	6,83	2,51	0,03	3841,30
5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,03	ND

(continuación)

Tabla 5 Parámetros farmacocinéticos del TH302 en ratas tras una administración intravenosa a cuatro dosis

Número de Animal	Parámetros farmacocinéticos								
	AUC <sub>(0-t)</sub> h x ng/ml	AUC <sub>(0-∞)</sub> h x ng/ml	MRT h	T <sub>1/2</sub> h	V <sub>β</sub> l/kg	Cl l/h/kg	V <sub>ss</sub> l/kg	T <sub>máx</sub> h	C <sub>máx</sub> ng/ml
6	868,22	919,39	1,36	6,29	49,33	5,44	7,68	0,03	3803,81
MEDIA	799,15	825,55	0,90	3,75	30,66	6,14	5,09	0,03	3822,56
DE	97,69	132,71	0,64	3,58	26,40	0,99	3,66	0,00	26,51
(20 mg/kg)									
7	2831,37	2921,19	0,99	9,40	92,86	6,85	2,89	0,03	13431,30
8	3380,61	3387,13	0,41	1,08	9,16	5,91	2,29	0,03	12009,10
9	3597,80	3618,51	0,37	2,65	2 1,10	5,53	1,68	0,03	15053,50
MEDIA	3269,93	3308,94	0,59	4,37	4 1,04	6,09	2,29	0,03	13497,97
DE	395,02	355,17	0,35	4,42	45,27	0,68	0,61	0,00	1523,29
(50 mg/kg)									
10	8827,84	8828,86	0,29	0,77	6,28	5,66	1,63	0,03	37198,50
11	8482,72	8488,15	0,30	0,94	7,99	5,89	1,68	0,03	37277,10
12	8083,24	8102,61	0,26	2,24	19,94	6,17	1,70	0,03	32033,40
MEDIA	8464,60	8473,21	0,29	1,32	11,41	5,91	1,67	0,03	35503,00
DE	372,63	363,35	0,02	0,80	7,44	0,25	0,04	0,00	3005,02

B: Demostración de la farmacocinética del TH302 en perros Beagle

- 5 La farmacocinética del TH302 se demostró en perros como se tabula a continuación.

Tabla 6

Dosis:	(mg/kg)	Hembras				Machos			
		4	8	16	32	4	8	16	32
Tmáx (h)	0,517	0,525	0,517	0,517	0,617	0,525	0,525	0,525	0,525
Cmáx (μg/ml)	3,83	6,41	13,7	18,5	4,16	6,35	10,8	23,0	
AUC (μg·h/ml)	2,27	3,40	7,66	9,53	2,33	3,64	6,20	11,0	
T <sub>1/2</sub> (h)	0,269	0,251	0,279	0,256	0,268	0,260	0,258	0,248	
Cl (l/h/kg)	1,76	2,38	2,09	3,39	1,70	2,23	2,58	2,91	
V <sub>ss</sub> (l/kg)	0,785	0,974	0,874	1,37	0,822	0,982	1,10	1,12	

C: Demostración de la farmacocinética del TH302 en macacos cangrejeros

- 10 Los parámetros farmacocinéticos individuales y medios del TH302 tras la administración intravenosa a una dosis de 20 mg/kg (N = 3) se muestran en la tabla 7.

Tabla 7

Animal	T <sub>máx</sub> (h)	C <sub>máx</sub> (ng/ml)	AUC <sub>última</sub> (ng x h/ml)	AUC			
				T <sub>1/2</sub> (ng x h/ml)	(h)	MRT (h)	Cl (l/h/kg)
04C0075	0,033	15900	1519	1539	0,826	0,476	13,0
01C0597	0,033	28500	3961	4082	0,194	0,245	4,90
01C0379	0,033	17600	3932	3942	0,226	0,269	5,07
Media	0,033	20667	3137	3188	0,415	0,330	7,66
DE	0	6837	1401	1429	0,356	0,127	4,62
Mín.	0,033	15900	1519	1539	0,194	0,245	4,90
Máx.	0,033	28500	3961	4082	0,826	0,476	13,0
CV, %	0	33,1	44,7	44,8	85,7	38,4	60,4
							131
							97,0

Ejemplo 12. Demostración de la biodistribución del TH302

- 15 Este ejemplo muestra la distribución del TH302 *in vivo* mediante autorradiografía de cuerpo entero (WBA) tras la administración de una única dosis intravenosa en embolada de [<sup>14</sup>C]TH302 a ratas. Se asignaron cinco ratas Sprague Dawley macho a un grupo de dosis. El TH302 no radiomarcado (0,06 g) se pesó en un frasco de formulación apropiado, se midió una solución de 153 μl de [<sup>14</sup>C]TH302 y se transfirió al frasco de formulación, seguido de la adición de 6,85 ml de 50 PEG400 en solución salina. La formulación resultante se esterilizó en frío por filtración a través de un filtro comercial de 0,22 μm de tamaño de malla. La formulación para administración mantuvo a la temperatura ambiente y en la oscuridad hasta la administración de la dosis. A los animales se les administró el TH302 radiomarcado mediante

una inyección intravenosa de la formulación a una dosis de 50 mg/kg, en donde se administró una radiactividad de aproximadamente 100  $\mu$ Ci. Después de la administración del TH302, los animales fueron sacrificados en puntos temporales seleccionados y los cadáveres se ultracongelaron y se procesaron para su seccionamiento. Se obtuvieron una serie de secciones sagitales y parasagitales de cada cadáver y se expusieron a una película de alta sensibilidad

5 hasta obtener una impresión adecuada de la radioactividad. Las imágenes obtenidas se analizaron de forma semicuantitativa mediante densitometría computarizada. Los resultados demostraron que tras la administración intravenosa del TH302, la radioactividad estaba asociada al tracto gastrointestinal (GI), su contenido, y el riñón.

#### Ejemplo 13. Ensayo clínico de fase I del TH302 en pacientes humanos

10 Este ejemplo describe un ensayo de fase I abierto y multicéntrico en el que se administra el TH302 a pacientes oncológicos.

#### Formulación y administración del TH302

15 El TH302 para inyección (100 mg) se preparó en viales de vidrio de 100 ml. El producto era una torta liofilizada y el vial estaba tapado y sellado por remache. El TH302 se almacenó en condiciones controladas a entre 2 y 8 °C. Cada dosis se preparó en 250 ml de D5W y se administró por vía intravenosa durante 30 minutos a través de una bomba de infusión.

20 La cantidad y frecuencia de administración del TH302 es como sigue:

Nivel 1: 7,5 mg/m<sup>2</sup> semanales x 3; 1 semana de reposo  
 Nivel 2: 15,0 mg/m<sup>2</sup> semanales x 3; 1 semana de reposo  
 Nivel 3: 30,0 mg/m<sup>2</sup> semanales x 3; 1 semana de reposo

25 Se usa un diseño de valoración acelerada modificado (Simon *et al.*, JNCI, 89: 1138-47). La administración se inicia en el nivel 1. Se incluirán hasta dos pacientes en los niveles de dosis iniciales. Hasta la primera toxicidad limitante de la dosis (DLT) o toxicidad de grado 2 que no esté claramente relacionada con la progresión de la enfermedad, una enfermedad intercurrente, medicamentos simultáneos u otra intervención no farmacológica que se produzca durante el ciclo 1, la dosis se incrementa en un 100 % a través de niveles sucesivos. Una DLT se definió como:

- 30 ◦ toxicidad no hematológica de grado 3 o de grado 4 (incluyendo la neutropenia febril),  
 ◦ náuseas de grado 3 o de grado 4, ◦ vómitos o diarrea que no puedan ser tratados médicalemente,  
 ◦ neutropenia de grado 4 que dure > 5 días,  
 ◦ trombocitopenia de grado 4 (o cualquier necesidad de transfusión de plaquetas),  
 ◦ anemia de grado 4 (no explicada por la enfermedad subyacente),  
 35 ◦ cualquier toxicidad no hematológica de grado 2 no preexistente (excluyendo las náuseas de grado 2, vómitos, diarrea, alopecia y fatiga) que, a juicio del investigador, del monitor médico y del patrocinador, se considere una DLT,  
 ◦ cualquier toxicidad no hematológica de grado 2 o superior que no se resuelva a una toxicidad de grado 0 o 1 al inicio del siguiente ciclo que, a juicio del investigador, del monitor médico y del patrocinador, se considere una DLT,  
 40 ◦ o la imposibilidad de comenzar el siguiente ciclo de tratamiento dentro de las dos semanas siguientes a la última dosis debido a una toxicidad no resuelta.

Antes de pasar al siguiente nivel de dosificación, el monitor médico y los investigadores principales debían revisar y analizar los datos relevantes de seguridad y farmacocinética disponibles.

45 Población del estudio

En este estudio se incluirán hasta 48 pacientes con tumores sólidos avanzados. Participarán cohortes de hasta 6 pacientes en la fase de escalada de dosis de titulación acelerada modificada. Una vez se ha establecida la MTD, se incluirán 6 pacientes adicionales en el nivel de dosis MTD. Los criterios de inclusión son como sigue:

1. Al menos 18 años de edad
2. Capacidad para comprender los propósitos y los riesgos del estudio y ha firmado un documento de consentimiento informado por escrito aprobado por el Comité Institucional de Revisión/Comité de ética del investigador
3. Malignidad sólida avanzada o metastásica confirmada histológica o citológicamente
4. Tumor maligno sólido avanzado o metastásico previamente tratado con uno o más regímenes de quimioterapia o para el cual no se dispone de una terapia eficaz
5. Se ha recuperado de las toxicidades de la terapia anterior
6. Enfermedad medible según los criterios RECIST (al menos una lesión indicadora)
7. Escala de estado funcional ECOG de 0 o 1
8. Esperanza de vida de al menos 3 meses
9. Una función hepática aceptable:

- Bilirrubina ≤ 1,5 veces el límite superior de la normalidad
- AST (SGOT) y ALT (SGPT) ≤ 2,5 veces el límite superior de la normalidad (ULN); si hay metástasis en el hígado, entonces se permite ≤ 5 x ULN

- 5            10. Una función renal aceptable:  
               ◦ creatinina sérica (Scr) dentro de los límites normales, o un aclaramiento de creatinina calculado (CRCl) ≥ 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> para los pacientes con unos niveles de creatinina superiores a los normales institucionales).
- 10          11. Estado hematológico aceptable (sin apoyo hematológico):  
               ◦ ANC ≥ 1.500 células/µl  
               ◦ recuento de plaquetas ≥ 100.000/µl  
               ◦ hemoglobina ≥ 9,0 g/dl
- 15          12. Análisis de orina: no hay anomalías clínicamente significativas  
               13. Estado de coagulación aceptable:  
               ◦ PT ≤ 1,3 x ULN
- 20          ◦ PTT ≤ 1,3 x ULN
- 25          14. Todas las mujeres con posibilidad de quedar embarazadas deben tener una prueba de embarazo sérica negativa, y las mujeres y los hombres sujetos deben aceptar utilizar medios anticonceptivos eficaces (esterilización quirúrgica o el uso o la anticoncepción de barrera con un preservativo o un diafragma junto con un gel espermicida o un DIU) con su pareja desde la inclusión en el estudio hasta 6 meses después de la última dosis.

Los criterios de exclusión serán como sigue:

- 30          1. Clase III o IV de la New York Heart Association (NYHA), cardiopatía, infarto de miocardio en los 6 meses anteriores al día 1, o arritmia inestable  
               2. Trastornos convulsivos que requieren terapia anticonvulsiva  
               3. Metástasis cerebrales sintomáticas (a menos que hayan sido tratadas previamente y estén bien controladas durante un periodo de ≥ 3 meses)  
               4. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica grave con hipoxemia o, en opinión del investigador, cualquier estado fisiológico que provoque hipoxemia  
               5. Cirugía mayor, que no sea la cirugía de diagnóstico, en las 4 semanas anteriores al día 1, sin recuperación completa  
               6. Infecciones bacterianas, víricas o fúngicas activas e incontroladas, que requieren terapia sistémica  
               7. Tratamiento con radioterapia, cirugía, quimioterapia, terapias dirigidas (erlotinib, lapatinib, etc.) u hormonas en las 4 semanas anteriores a la inclusión en el estudio (6 semanas para las nitrosoureas o la mitomicina C)  
               8. Pacientes que hayan participado en un estudio de medicamentos o dispositivos en investigación en los 28 días anteriores a la inclusión en el estudio  
               9. Infección conocida por VIH, hepatitis B o hepatitis C  
               10. Pacientes que hayan mostrado reacciones alérgicas a un compuesto estructural, agente biológico o formulación similar (que contenga solutol y/o propilenenglicol)  
               11. Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia  
               12. Enfermedad o afección simultánea que pueda interferir con la realización del estudio o que, en opinión del investigador, supondría un riesgo inaceptable para el sujeto de este estudio  
               13. Falta de voluntad o incapacidad para cumplir con el protocolo del estudio por cualquier motivo

#### 50          Preselección

55          Los candidatos serán evaluados para ser incluidos en el estudio de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión establecidos (sección 4, *Población del estudio*). El investigador evaluará los resultados de todos los análisis, incluyendo las pruebas analíticas clínicas, y determinará la idoneidad de cada candidato para el estudio. El investigador debe conocer los resultados en la situación inicial antes de la inclusión. La prueba de embarazo en suero para las mujeres con capacidad de procrear debe ser negativa para quienes avancen hasta la inclusión. Todos los procedimientos de preselección debían realizarse dentro de los 21 días del ciclo 1/día 1.

- 60          Se llevarán a cabo los siguientes procedimientos para establecer el estado de salud general de cada candidato y sus condiciones para la posible inclusión en el estudio:  
               se registrarán la anamnesis, incluyendo la histología del tumor primario (y el grado de diferenciación), el sitio del tumor primario, la fecha de diagnóstico del cáncer, la fecha de diagnóstico de la enfermedad avanzada/metastásica, los tipos y fechas de terapias antitumorales previas (incluyendo cirugía, radioterapia, terapia sistémica) y la fecha de la más reciente progresión de la enfermedad. Si se ha tratado previamente, se registrará la mejor respuesta a la última quimioterapia y la fecha de progresión. Si se dispone de mediciones del tumor antes y después de la quimioterapia,

se usarán los RECIST para estas evaluaciones de los tumores. Los antecedentes de medicación reciente, incluyendo vitaminas, fitofármacos, productos sanguíneos y otros medicamentos de venta sin receta (incluyendo todos los medicamentos simultáneos tomados dentro de los 14 días del Día 1) serán documentados para los sujetos incluidos.

- 5 Se extenderá un ECG de 12 derivaciones. Se registrarán las mediciones de la presión arterial (PA), la frecuencia cardíaca (FC), la frecuencia respiratoria (FR) y la temperatura. Estas mediciones se harán de acuerdo con las instrucciones convencionales. Se realizará una exploración clínica completa (incluyendo una evaluación ocular) y se registrarán la altura y el peso.

Se realiza una evaluación del tumor con una TAC helicoidal de la o las ubicaciones relevantes (es decir, el abdomen, la pelvis y/o el tórax, más otras evaluaciones relevantes para evaluar toda la enfermedad conocida) en los 28 días siguientes al inicio del estudio y tras la finalización de la terapia antitumoral más reciente y tras la progresión más reciente. Toda la enfermedad conocida debe ser documentada como lesiones objetivo o no objetivo usando los RECIST. Las lesiones que se espera que requieran radioterapia paliativa durante el estudio no deben incluirse como lesiones objetivo, sino que deben figurar como lesiones no objetivo. Las lesiones que no han recibido radioterapia en las 6 semanas anteriores pueden ser lesiones objetivo.

Se evaluará el estado funcional según el Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG). Se extraerán muestras sanguíneas para hematología y química. Se obtendrán marcadores tumorales, si fuera apropiado. El aclaramiento de creatinina (CrCL) se calculará mediante la fórmula de Cockcroft-Gault y se estandarizará en función de la SC.

Hombres: CrCL (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) = (140 - edad) x (PC [kg]) x (SC) / (1,73 x 72 x (creatinina sérica [mg/dl])), donde la edad es la edad en años, SC = superficie corporal (m<sup>2</sup>) y PC (kg) es el peso corporal

Mujeres: CrCL (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) = 0,85 x (140 - edad) x (PC [kg]) x (SC) / (1,73 x 72 x (creatinina sérica [mg/dl]))

- 25 Se realizará una prueba de embarazo de HCG en suero en mujeres con posibilidad de quedar embarazadas (todos las mujeres a menos que estén esterilizadas quirúrgicamente o al menos un año después de la menopausia). Se realizarán análisis microbiológicos de las muestras de orina.

### 30 Período de tratamiento:

Ciclos 1-6: el TH-302 se administrará semanalmente durante 3 semanas, seguido de un período de reposo de 1 semana, durante hasta 6 ciclos. Todas las evaluaciones requeridas del estudio deben obtenerse dentro de los  $6 \pm 3$  días del punto temporal nominal, a menos que se especifique lo contrario. Los sujetos deben recibir la primera dosis del fármaco del estudio en los 21 días siguientes al inicio de la preselección.

Los siguientes procedimientos se realizarán en todos los sujetos el día 1 del ciclo 1 antes de administrar el TH-302:

- Ciclo 1, Semanas 1, 2 y 3: se recogerá una muestra de sangre y de orina previa a la dosis para el análisis farmacocinético del TH-302 y del Br-IPM (únicamente en la semana 1 y en la semana 3)

Ciclos 1-6, Semanas 1, 2 y 3: antes de la administración del TH-302 deben evaluarse la ALT, la AST, la bilirrubina, la creatinina séricas y el aclaramiento de creatinina calculado. El aclaramiento de creatinina debe ser  $\geq 60$  ml/min/ $1,73\text{ m}^2$  para la administración de TH302. Antes del primer día de administración del ciclo 1, la ALT, la AST, la bilirrubina y la creatinina deben cumplir los criterios de selección del protocolo en los 3 días anteriores a la administración del TH302.

Procedimientos farmacocinéticos en plasma y orina después de la dosis (únicamente el ciclo 1): si la infusión no se completa en 30 minutos, los tiempos de las siguientes extracciones de sangre para farmacocinética se ajustarán en consecuencia. Se recogerán muestras de plasma y de orina para el análisis farmacocinético del TH-302 y del Br-IPM. Se registrarán los medicamentos simultáneos.

50

El tamaño de las cohortes se aumentará hasta un mínimo de 3 sujetos después de la primera DLT o toxicidad de grado 2 relacionada con el fármaco que claramente no esté relacionada con la progresión de la enfermedad, una enfermedad intercurrente, medicamentos simultáneos u otra intervención no farmacológica comenzando en el nivel de dosis actual. A continuación, se tratarán cohortes secuenciales de tres pacientes con dosis escaladas hasta que se establezca la MTD. Cada escalada de dosis será entre un 20 % y un 40 % mayor que la dosis anterior, y el aumento porcentual dependerá del nivel de dosis actual y de los datos de seguridad acumulados. Será necesario realizar un seguimiento de todos los sujetos de una cohorte de nivel de dosis durante 4 semanas (o hasta la DLT) antes de incluir a los sujetos en el siguiente nivel de dosis más alto. No se permitirán escaladas de dosis en pacientes individuales.

65 Tras la observación de la primera DLT o toxicidad de grado 2 que claramente no esté relacionada con la progresión de la enfermedad, una enfermedad intercurrente, medicamentos simultáneos u otra intervención no farmacológica, se incluirán al menos 3 pacientes en cada nivel de dosis. En caso de que 1 de los 3 primeros pacientes en un nivel de dosis experimente una DLT, durante del primer ciclo, se tratarán hasta 3 pacientes adicionales con ese nivel de dosis. Si 2 o más pacientes en un nivel de dosis dado experimentan una DLT durante el primer ciclo, entonces se habrá

excedido la MTD y se tratarán hasta un total de 6 pacientes con el siguiente nivel de dosis más bajo. Si menos de 2 de 6 pacientes experimentan una DLT en este nivel de dosis más bajo, esta dosis será declarada la MTD.

Una vez que se ha establecido una MTD, se incluirán 6 pacientes adicionales en el nivel de dosis MTD.

5

#### Modificaciones de la dosis

En pacientes individuales se permitirán las modificaciones de la dosis tabuladas a continuación. Si fuera necesario retrasar una dosis, la dosis se omitiría y el paciente recibiría la siguiente dosis según el programa. Si un paciente requiere más de 2 reducciones de dosis por toxicidad, el paciente debe suspender el tratamiento

Tabla 8. Modificaciones de la dosis de TH302<sup>1</sup>

Grado	Acontecimiento adverso	Acción	Acción tras la resolución
<u>Toxicidades de grado 1</u>	Aclaramiento de creatinina <60 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> por Cockcroft-Gault	Mantener la dosis y repetir el CrCL al menos 3 días después	Suspender el TH302 si el CrCL sigue siendo <60 ml/min/1,73 m <sup>2</sup>
	Hematología (recuento de plaquetas < 100.000/ul)	Mantener la dosis hasta que el recuento de plaquetas ≥ 100.000/ul	Reanudar con la dosis completa
<u>Toxicidades de grado 2<sup>2</sup></u>	Todas (excepto alopecia, náuseas, vómitos, diarrea o fatiga)	Mantener la dosis hasta la resolución a grado 0 o 1	Reanudar con la dosis completa
<u>Toxicidades de grado 3<sup>3</sup></u>	Todas (excepto náuseas y vómitos)	Mantener la dosis hasta la resolución a grado 0 o 1 o hasta que se trate adecuadamente (es decir, embolia pulmonar)	Reanudar con el nivel de dosis anterior más bajo
<u>Toxicidades de grado 4<sup>4</sup></u>	Afecciones potencialmente mortales que se consideran debidas al TH-302	Se debe suspender el tratamiento	ND
	Otros eventos de grado 4 tales como neutropenia, anemia, fatiga y embolia pulmonar sin riesgo para la vida que se tratan adecuadamente	Mantener la dosis hasta la resolución a grado 0 o 1	Revisar en el nivel de dosis anterior más bajo si el médico responsable determina que el mejor interés del sujeto es continuar

<sup>1</sup> Estas directrices se refieren a los acontecimientos adversos que se considera que no están claramente relacionados con la progresión de la enfermedad, una enfermedad intercurrente, medicamentos simultáneos u otra intervención no farmacológica. Sin embargo, estas reglas de modificación de la dosis deben seguirse para todos los cambios en el CrCL y la bilirrubina sérica, independientemente de que se considere que las anomalías no están claramente relacionadas con la progresión de la enfermedad, una enfermedad intercurrente, medicamentos simultáneos u otra intervención no farmacológica. Si un sujeto requiere más de 2 reducciones de dosis por toxicidad, debe suspender el tratamiento.

<sup>2</sup> ALT/AST de grado 2 en la situación inicial, el tratamiento no debe llevarse a cabo si sigue siendo de grado 2

<sup>3</sup> ALT/AST de grado 2 en la situación inicial, el tratamiento se reanuda cuando el valor vuelve a ser de grado 2.

#### Calendario de evaluaciones

15 La duración total de la parte activa del estudio para cada sujeto será de aproximadamente 30 semanas, dividido de la siguiente manera:  
hasta 3 semanas antes de la dosis (periodo de preselección); hasta seis ciclos de tratamiento de 4 semanas (periodo de tratamiento de 24 semanas); opcionalmente, permitir que los sujetos que no hayan progresado al final del periodo de tratamiento continúen la terapia en función de cada caso, tras la revisión del investigador y el monitor médico;  
20 periodo de seguimiento de seguridad (visita de finalización del estudio 1-2 semanas después de la última dosis de la medicación del estudio); preselección de todos los sujetos en los 21 días anteriores al ciclo 1/día 1 (visita de preselección).

25 Se usarán las constantes vitales, los resultados de las pruebas analíticas clínicas, el peso y los EA para evaluar la seguridad. La eficacia se evaluará tomando como base las evaluaciones del tumor (tasa de respuesta objetiva y duración de la respuesta) realizadas a intervalos durante el estudio, y la supervivencia global.

#### Finalización del estudio/Finalización temprana del estudio

30 Si el CrCL es anormal (<75 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> para las mujeres o <85 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> para los hombres) al finalizar el estudio y al menos 5 ml/min menor que el valor del ciclo 1/día 1, debe medirse la creatinina sérica y calcularse el CrCL una vez cada 3 semanas hasta que vuelva a la situación inicial o durante 12 semanas, lo que suceda primero.

Procedimientos farmacocinéticos

- Se recogerá una muestra de sangre para la determinación farmacocinética de las concentraciones plasmáticas de TH-302 y/o de Br-IPM en todos los sujetos incluidos en el estudio únicamente los días 1 y 15 del ciclo 1, antes de la dosis, 5 15 y 30 (fin de la infusión) 35, 45 minutos, 1, 1,5, 2, 2,5, 3,5, 4,5, 6,5, 8,5 y 12,5 horas después del inicio de la infusión. Si la infusión no se completa en 30 minutos, los tiempos de las siguientes extracciones de sangre para farmacocinética deben ajustarse en consecuencia. El día 8 del ciclo 1 se recogerán muestras de sangre para el análisis farmacocinético antes de la administración y al final de la infusión.
- 10 La orina se recogerá durante las primeras 12 horas después de la administración en los siguientes intervalos de tiempo: antes de la dosis, 0-4, 4-8 y 8-12 horas después del inicio de la infusión únicamente para el ciclo 1 (días 1 y 15).

Los detalles sobre la recogida, el procesamiento, el almacenamiento y el envío de las muestras de plasma y de orina se proporcionarán en un manual aparte.

15 Procedimientos de seguridad

- Se realizará una exploración clínica completa en el momento de la preselección y en el momento de la finalización del estudio o de la finalización temprana del estudio. Se realizará una exploración clínica limitada dentro de los 5 días anteriores al tratamiento de la semana 1 de los ciclos 1-6. Se realizará una evaluación ocular con cada exploración clínica completa y limitada. Si los resultados de la evaluación ocular son clínicamente significativos, el paciente debe ser remitido a un oftalmólogo para una evaluación adicional. Se realizará una exploración neurológica con cada exploración clínica completa y limitada. Se medirá el peso corporal antes de cada dosis. Los resultados de las exploraciones clínicas se usarán únicamente con fines de seguimiento de la seguridad. En cada visita del estudio, de acuerdo con una buena práctica médica, se evaluará el estado de salud general del sujeto (por ejemplo, su aspecto, la presencia de enfermedades o lesiones, la temperatura y las constantes vitales indicativas de una enfermedad simultánea) para determinar si es apropiado continuar la administración.

- 30 El número máximo de muestras y la cantidad aproximada de sangre que debe recogerse de cada sujeto se muestran en la tabla 9.

Tabla 9

Ensayo	Preselección	Número de muestras por ciclo			Número total de muestras	Aproximadamente, ml por muestra	Subtotal de sangre (ml)
		1	2-6	Finalización			
Hematología	1	3	15	1	20	5	100
Química sérica	1	3	15	1	20	5	100
PT, PTT	1	0	0	0	1	5	5
Marcadores tumorales <sup>1</sup>	1	1	5	1	8	5	40
TH-302/BrIPM en plasma	0	30	0	0	30	5	150
Prueba de embarazo en suero <sup>2</sup>	1	1	2	0	4	5	20
Total de ml de sangre							415

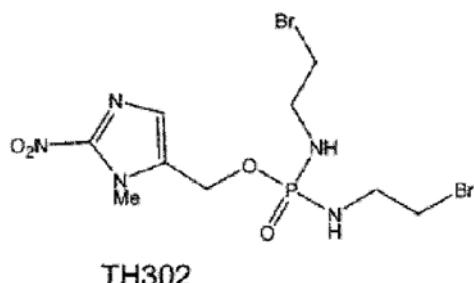
<sup>1</sup> CA-125, CA 19-9, PSA, EGFR, Her-2, etc. y cualquier otro marcador tumoral específico del cáncer aplicable.

<sup>2</sup> Mujeres con capacidad de procrear. Se requiere suero únicamente en la preselección. La orina o el suero pueden ser analizados posteriormente.

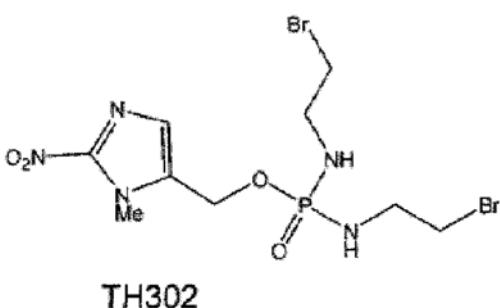
Se extraerá un total de aproximadamente 415 ml de sangre de cada sujeto durante el estudio: 25 ml en la preselección, 290 ml durante el ciclo 1, 35-40 ml durante cada ciclo 2-6, y 15 ml al finalizar el estudio. Se usarán muestras de sangre para evaluar las pruebas analíticas clínicas y las concentraciones máximas de TH-302 y de Br-IPM.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende TH302 y etanol para usar en un método de tratamiento del cáncer mediante la administración intravenosa de TH302 en una cantidad en el intervalo de 4 mg/m<sup>2</sup> a 1.600 mg/m<sup>2</sup> a un paciente que necesite dicho tratamiento, en donde la formulación se diluye antes de la administración, y en donde la estructura del TH302 es:



- 10 2. La formulación para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la administración tiene una frecuencia de al menos una vez por semana.
3. La formulación para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la administración es durante un período de al menos 3 semanas.
- 15 4. La formulación para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el cáncer tratado se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de médula ósea, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de ganglio linfático y cáncer de ovario.
- 20 5. La formulación para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la administración se realiza en combinación con otro agente antineoplásico seleccionado del grupo que consiste en cisplatino, carboplatino, docetaxel, paclitaxel, gemcitabina e irinotecán.
- 25 6. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1 para usar en un método de tratamiento del cáncer de próstata en donde el paciente también se trata con docetaxel.
7. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1 para usar en un método de tratamiento del cáncer metastásico en donde el paciente también se trata con irinotecán.
- 30 8. La formulación para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la formulación no contiene más del 5 % de cualquier disolvente distinto del etanol.
9. La formulación para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el TH302 se administra en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 16 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 400 mg/m<sup>2</sup>.
- 35 10. La formulación para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la administración es en combinación con radioterapia.
- 40 11. Uso de una formulación que comprende TH302 y etanol para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, diluyendo la formulación y administrando la formulación por vía intravenosa a un paciente que necesita dicho tratamiento en una cantidad tal que el TH302 esté en el intervalo de 4 mg/m<sup>2</sup> a 1.600 mg/m<sup>2</sup>, y en donde la estructura del TH302 es:



*Fig. 1*

Fracción superviviente del tumor tratado con 50 mg/kg  
IV de TH302 con diferentes niveles de oxígeno

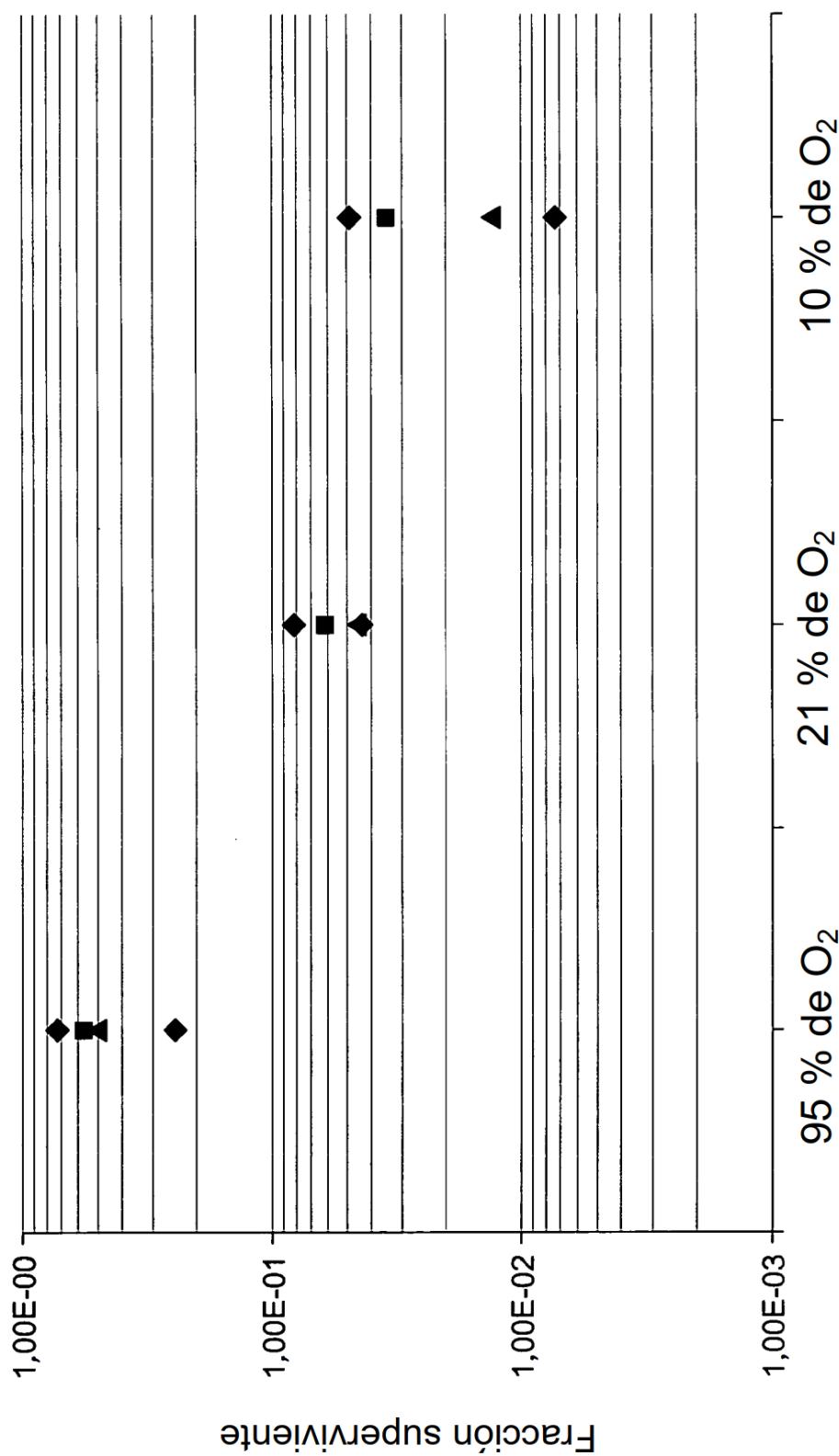


Fig. 2

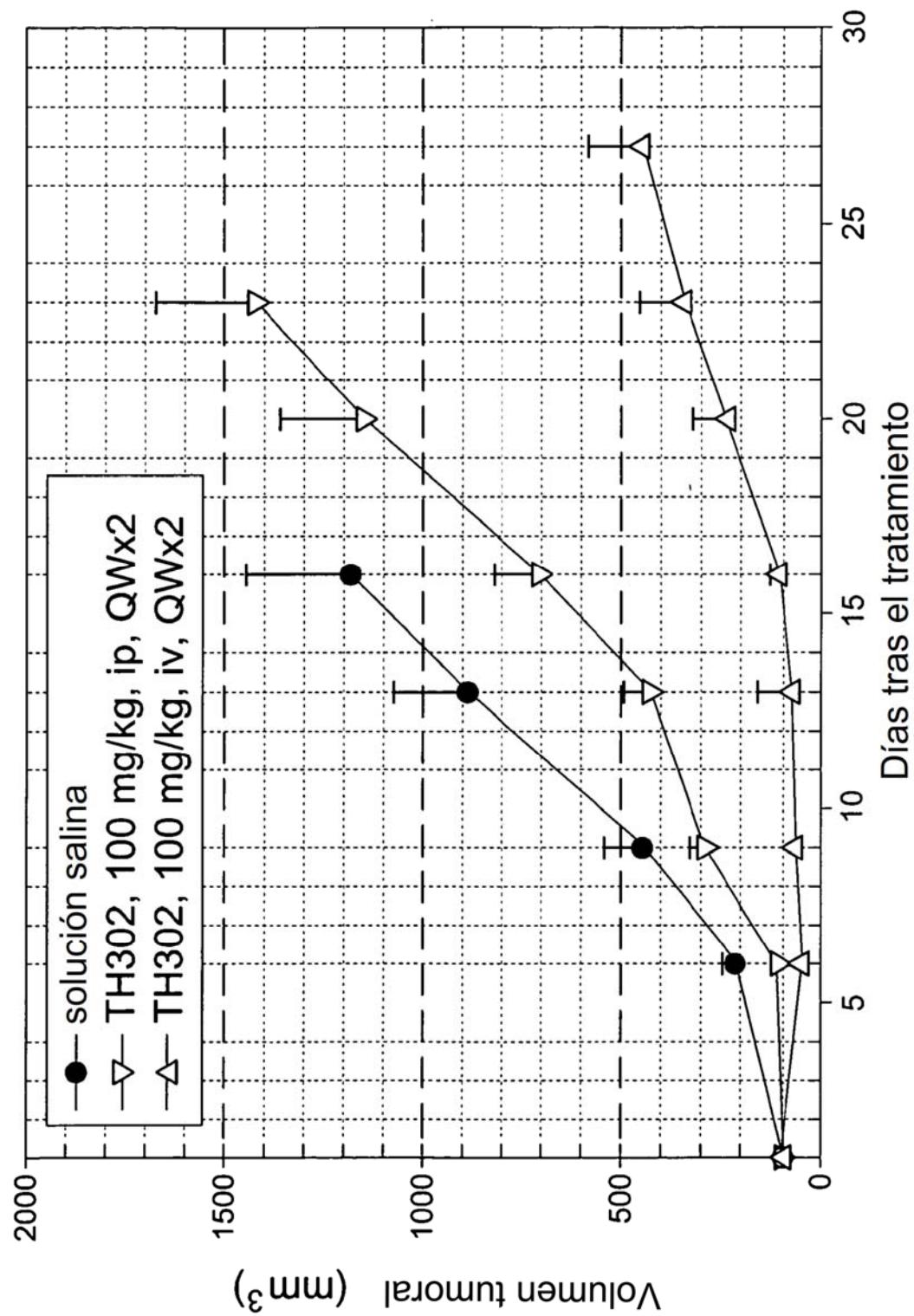


Fig. 3

