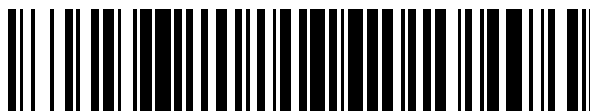


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 819 909**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61K 31/444** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.04.2016 PCT/KR2016/003602**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.10.2016 WO16163754**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.04.2016 E 16776857 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2020 EP 3236961**

54 Título: **Composición farmacéutica para prevenir o tratar el cáncer**

30 Prioridad:

**07.04.2015 KR 20150049215**

**28.07.2015 KR 20150106779**

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

**19.04.2021**

73 Titular/es:

**MEDPACTO INC. (100.0%)  
C-506, 145, Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu  
Suwon-si, Gyeonggi-do 16229, KR**

72 Inventor/es:

**HA, IL HO y  
KIM, SEONG JIN**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 819 909 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**

Composición farmacéutica para prevenir o tratar el cáncer

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para prevenir o tratar el melanoma y su uso en un método para tratar el melanoma.

Técnica antecedente

10 La inmunoterapia contra el cáncer se refiere a una terapia que trata el cáncer usando el sistema inmunológico del cuerpo. Las células cancerosas pueden tener moléculas de superficie celular, por ejemplo, proteínas o carbohidratos, que a menudo pueden ser detectadas por el sistema inmunológico. La inmunoterapia contra el cáncer puede inducir al sistema inmunológico a atacar las células cancerosas direccionando estos antígenos. Una forma de activar la inmunidad antitumoral es bloquear las rutas del punto de regulación inmunológica. La ruta del punto de regulación inmunológica se refiere a las rutas de señalización intracelular que mantienen la auto-tolerancia y protegen los tejidos de una respuesta inmune excesiva que causa daño. Algunos puntos de regulación inmunológica son mecanismos primarios de evasión inmunitaria para las células tumorales. Por lo tanto, inhibir o bloquear el punto de regulación inmunológica puede inducir la activación de las células T y, por lo tanto, el sistema inmunológico antitumoral puede mejorar.

20 El factor de crecimiento por transformación (TGF)- $\beta$  es una citoquina que regula la proliferación y diferenciación celular, la cicatrización de heridas, la producción de matriz extracelular o similares. La familia TGF- $\beta$  pertenece a la superfamilia TGF- $\beta$ , y esta superfamilia TGF- $\beta$  incluye activinas, inhibinas, proteínas morfogenéticas óseas y hormona anti-Mulleriana. Las células tumorales y las células del estroma dentro de los tumores en las últimas etapas de diversos cánceres generalmente sobreexpresan TGF- $\beta$ . TGF- $\beta$  conduciría a la estimulación de la angiogénesis y la motilidad celular, la supresión del sistema inmunológico y una mayor interacción de las células tumorales con la matriz extracelular. Los receptores de TGF- $\beta$  son receptores de serina/treonina quinasa y se dividen en receptor 1 de TGF- $\beta$ , receptor 2 de TGF- $\beta$  y receptor 3 de TGF- $\beta$ . De ellos, el receptor 1 de TGF- $\beta$  también se denomina una quinasa similar al receptor de activina A tipo II (ALK5). Yoon et al., EMBO Molecular Medicine, 2013, 5: 1720-1739, divulgan una terapia de combinación con TEW-7179 y un anticuerpo para el tratamiento del melanoma.

25 Por consiguiente, para la prevención o el tratamiento efectivo del cáncer, existe la necesidad de una composición farmacéutica capaz de inhibir de manera efectiva una ruta de señalización de TGF- $\beta$  así como de mejorar la inmunidad antitumoral.

30 Divulgación

Solución técnica

Se proporciona una composición farmacéutica para uso en la prevención o el tratamiento del melanoma, incluyendo la composición farmacéutica un compuesto que tiene una actividad inhibitoria de la ruta de señalización de TGF- $\beta$  y un factor de activación de linfocitos T como se define en las reivindicaciones adjuntas.

35 Efectos ventajosos

Una composición farmacéutica para prevenir o tratar el melanoma de acuerdo con un aspecto y su uso en un método para prevenir o tratar el melanoma para prevenir o tratar efectivamente el melanoma.

Descripción de dibujos

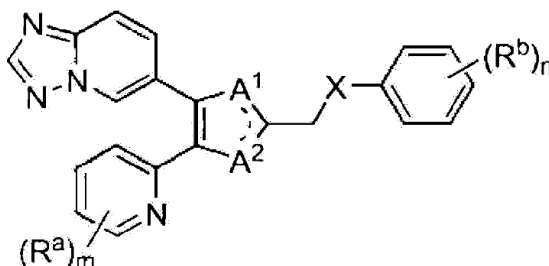
40 Estos y/u otros aspectos resultarán evidentes y se apreciarán más fácilmente a partir de la siguiente descripción de las realizaciones, junto con los dibujos adjuntos en los que:

Las figuras 1A a 1C son gráficos que muestran el volumen del tumor ( $\text{mm}^3$ ) dependiendo de las combinaciones de TEW-7197, anticuerpo anti-CTLA4, anticuerpo anti-PD-L1 o anticuerpo anti-PD1.

Modo para la invención

45 Se describe una composición farmacéutica para prevenir o tratar el cáncer, incluyendo la composición farmacéutica un compuesto representado por la Fórmula I, una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos:

[Fórmula I]



en la que, en la fórmula I, Ra puede ser cada uno independientemente hidrógeno (H), halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, OH, -O-alquilo C<sub>1-6</sub>, -O-haloalquilo C<sub>1-6</sub>, -O-cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH-alquilo C<sub>1-6</sub>, -NH-haloalquilo C<sub>1-6</sub>, -NH-cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, -S-alquilo C<sub>1-6</sub>, -S-C<sub>1-6</sub> haloalquilo, -S-C<sub>3-6</sub> cicloalquilo, -CN o -NO<sub>2</sub>;

5 m puede ser 0, 1, 2, 3 o 4;

uno cualquiera de A<sup>1</sup> y A<sup>2</sup> puede ser N, y el otro es NR<sup>1</sup>, en la que R<sup>1</sup> puede ser H, OH, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub> o cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

X puede ser un enlace, -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-, -NR<sup>2</sup>-, -O- o -S-, en la que p puede ser 0 o 1, y R<sup>2</sup> puede ser H o alquilo C<sub>1-3</sub>;

10 R<sup>b</sup> puede ser cada uno independientemente H, halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, alquenilo C<sub>2-6</sub>, alquinilo C<sub>2-6</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-OR<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-SR<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-NO<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-CONHOH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-CN, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-COR<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-CO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-tetrazolo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-CH=CH-CN, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-CH=CH-CO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-CH=CH-CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-CH=CH-tetrazolo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-NHCOR<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-NHCO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-CONHSO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-NHSO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-C=C-CN, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-C=C-CO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-C=C-CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-C=C-tetrazolo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-SOR<sup>5</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-SO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>, or -(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-(OR<sup>3</sup>)<sub>2</sub>, donde R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> pueden ser cada uno independientemente H, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub> o cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o tomados junto con un átomo de nitrógeno unido al mismo para formar un anillo monocíclico, por ejemplo, imidazol, pirrolidina, piperidina, morfolina, piperazina y homopiperazina, R<sup>5</sup> puede ser alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub> o cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, q puede ser 0, 1, 2, 3, o 4, r puede ser 1, 2, 3 o 4; y

15 n puede ser 0, 1, 2, 3, 4 o 5; y

un factor activador de linfocitos T.

20 El grupo alquilo puede ser lineal o ramificado. Ejemplos del grupo alquilo pueden incluir metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, n-pentilo y n-hexilo. El grupo alquilo puede estar sustituido con al menos uno seleccionado de alcoxi, cicloalcoxi, amino, nitro, carboxi, ciano, halo, hidroxilo, sulfuro, mercapto o una combinación de los mismos.

El grupo cicloalquilo puede ser ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo.

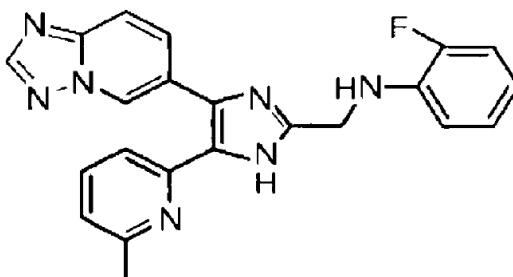
25 El halo puede ser flúor, cloro, bromo o yodo.

El grupo alquenilo puede ser lineal o ramificado. El grupo alquenilo puede ser vinilo, alilo, isoprenilo, 2-butenilo o 2-hexenilo. El grupo alquenilo puede estar sustituido con alcoxi, cicloalcoxi, amino, nitro, carboxi, ciano, halo, hidroxilo, sulfuro, mercapto o una combinación de los mismos.

30 El grupo alquinilo puede ser lineal o ramificado. El grupo alquinilo puede ser etinilo, propargilo o 2-butenilo. El grupo alquinilo puede estar sustituido con alcoxi, cicloalcoxi, amino, nitro, carboxi, ciano, halo, hidroxilo, sulfuro, mercapto o una combinación de los mismos.

La composición farmacéutica de la presente invención incluye un compuesto representado por la Fórmula II, una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos. El compuesto es un compuesto representado por la Fórmula II:

[Fórmula II]



El compuesto de Fórmula II puede ser N-((4-([1,2,4] triazolo [1,5-a] piridin-6-il)-5- (6-metilpiridin-2-il)-1H-imidazol-2-il)metil)-2-fluoroanilina.

5 El compuesto de Fórmula I, es decir, el compuesto de Fórmula II puede inhibir selectivamente el receptor 1 de TGF- $\beta$  (ALK5) y/o el receptor de activina tipo 1B (ACVR1B o ALK-4).

La sal farmacéuticamente aceptable puede ser una sal que puede no causar una irritación significativa a un organismo al que se administra un compuesto y no puede anular la actividad biológica y las propiedades del compuesto. La sal puede ser, por ejemplo, una sal de ácido inorgánico, una sal de ácido orgánico o una sal metálica. La sal de ácido inorgánico puede ser una sal de ácido clorhídrico, ácido brómico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico o ácido disulfúrico. La sal de ácido orgánico puede ser una sal de ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido málico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido besílico, ácido camfílico, ácido edisílico, ácido tricloroacético, ácido trifluoroacético, ácido benzoico, ácido glucónico, ácido metanosulfónico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido 4-toluensulfónico, ácido galacturónico, ácido embónico, ácido glutámico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluensulfónico o ácido aspártico. La sal de metal puede ser una sal de calcio, una sal de sodio, una sal de magnesio, una sal de estroncio o una sal de potasio.

15 El solvato puede ser un compuesto formado por fuerzas de atracción entre las moléculas de soluto y solvente. El solvato puede ser un hidrato.

El estereoisómero se refiere a moléculas que tienen la misma fórmula molecular y conectividad de sus átomos, pero difieren en la disposición espacial de los átomos. El estereoisómero puede ser un diastereoisómero o un enantiómero del compuesto de Fórmula I.

20 El factor de activación de linfocitos T se refiere a una molécula que induce la activación de las células T. El factor de activación de linfocitos T puede ser un inhibidor del punto de regulación inmunológica, una molécula inmunoestimuladora, un inhibidor del factor inmunosupresor o una combinación de los mismos.

El punto de regulación inmunológica se refiere a una molécula en el sistema inmunológico que bien sea activa una señal de células T (moléculas coestimuladoras) o rechaza una señal de células T. La molécula de punto de regulación inmunológica puede ser una molécula inmunoestimuladora o una molécula inmunitaria inhibidora. La molécula inmunoestimuladora puede ser un agonista que induce la activación de las células T. La molécula inmunoestimuladora puede ser CD27, CD40, OX40, GITR, CD137, CD28, un coestimulador de células T inducible (ICOS) o una combinación de los mismos.

30 Una inhibición o bloqueo del punto de regulación inmunológica puede referirse a la inhibición de la tolerancia inmunológica o la activación de un sistema inmunológico. El bloqueo del punto de regulación inmunológica puede incluir cualquiera de las rutas de señalización que activan las células T para el aumento de la respuesta inmunitaria antitumoral. El inhibidor del punto de regulación inmunológica puede referirse a una molécula que inhibe o bloquea las moléculas del punto de regulación inhibitorio para activar las células T. El inhibidor del punto de regulación inmunológica puede ser un antagonista que libera la inhibición de las células T.

El factor activador de linfocitos T puede ser un agonista que puede inhibir la transducción de señales o reducir la expresión de un receptor de células T seleccionado del grupo que consiste en una proteína 1 de muerte celular programada (PD1), un antígeno 4 citotóxico asociado a linfocitos T (CTLA4), un atenuador de linfocitos B y T (BTLA), un receptor similar a inmunoglobulina de células asesinas (KIR), un gen 3 de activación de linfocitos (LAG3), una proteína 3 de membrana de células T (TIM3) y un receptor de adenosina A2a (A2aR). PD1, CTLA4, BTLA, KIR, LAG3, TIM3 y A2aR son receptores de células T que transmiten señales inhibitorias de las células T. A este respecto, el factor de activación de linfocitos T puede inhibir la transducción de señales o reducir la expresión de PD1, CTLA4, BTLA, KIR, LAG3, TIM3, A2aR o una combinación de los mismos para activar las células T.

45 El factor de activación de linfocitos T puede ser un antagonista que puede inhibir la transducción de señales o reducir la expresión de una proteína de superficie de una célula presentadora de antígeno (APC) seleccionada del grupo que

consiste en un ligando 1 de muerte programada (PD-L1 o PDL1), un ligando 2 de muerte programada (PD-L2 o PDL2), una aglomeración de diferenciación (CD) 80, CD86, B7-H3, B7-H4, un mediador de entrada del virus del herpes (HVEM) y galectina 9 (GAL9). PD-L1, PD-L2, CD80, CD86, B7-H3, B7-H4, HVEM, GAL9 o una combinación de las mismas es una proteína de superficie de APC, que puede unirse a un receptor de células T que transmite señales inhibitorias de T células. En este sentido, el factor de activación de linfocitos T puede inhibir la transducción de señales o reducir la expresión de PD-L1, PD-L2, CD80, CD86, B7-H3, B7-H4, HVEM, GAL9 o una combinación de los mismos para activar las células T.

Se describe que el factor de activación de linfocitos T es un agonista que activa un receptor de linfocitos T. El factor de activación de linfocitos T puede ser un agonista que puede inducir la transducción de señales o aumentar la expresión de un receptor de linfocitos T seleccionado del grupo que consiste en CD28, ICOS, CD137, OX40 y CD27. CD28, ICOS, CD137, OX40 y CD27 son receptores de células T que transmiten señales de activación de las células T. Las células T pueden activarse activando la transducción de señales o aumentando la expresión del receptor de linfocitos T. En este sentido, la molécula del punto de regulación estimulante puede activar la transducción de señales o aumentar la expresión de D28, ICOS, CD137, OX40, CD27 o una combinación de los mismos para activar las células T.

El factor inmunosupresor se refiere a una molécula que inhibe o bloquea la capacidad de respuesta inmune antitumoral. El factor inmunosupresor puede ser un factor de crecimiento por transformación  $\beta$  (TGF $\beta$ ), interleucina (IL)-10, prostaglandina E2 (PGE<sub>2</sub>), CCL2 (también conocida como proteína 1 quimioattractiva de macrófagos: MCP-1), receptor Fas (FasR)/ligando (FasL), antígeno 4 de linfocito T citotóxico (CTLA-4), homólogo 1 de B7 (B7-H1), ligando 1 de muerte programada (PD-L1) o una combinación de los mismos. El inhibidor del factor inmunosupresor puede inducir la actividad de las células T. El factor inmunosupresor puede ser uno seleccionado del grupo que consiste en TGF $\beta$ , IL-1, IL-6, IL-10, IL-12 e IL18, o un agonista que regule el seleccionado del grupo. La regulación puede ser la supresión o activación de funciones, o una disminución o un aumento de la expresión. TGF $\beta$ , IL-1, IL-6, IL-10, IL-12 e IL-18 son citoquinas y la inhibición de las citoquinas puede activar las células T.

El agonista, antagonista o inhibidor del factor inmunosupresor es un polipéptido, que es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. El término "anticuerpo" se puede usar de manera intercambiable con el término "inmunoglobulina (Ig)". Un anticuerpo completo tiene una estructura que tiene dos cadenas ligeras de longitud completa y dos cadenas pesadas de longitud completa, cada una de las cuales se une a la cadena pesada mediante un enlace disulfuro (enlace SS). El anticuerpo puede ser IgA, IgD, IgE, IgG o IgM. El término "fragmento de unión a antígeno" se refiere a un fragmento de una estructura completa de Ig, es decir, una porción de polipéptido que incluye una porción a la que puede unirse un antígeno. El fragmento de unión al antígeno puede ser F(ab')<sub>2</sub>, Fab', Fab, Fv, o scFv. El anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal o un anticuerpo policlonal. Ejemplos del ácido nucleico pueden incluir microARN (miARN) y ARN de interferencia corta (ARNip).

El factor de activación de linfocitos T puede ser un anticuerpo PD-L1, un anticuerpo PD1, un anticuerpo CTLA4 o una combinación de los mismos. Ejemplos del anticuerpo PD-L1 pueden incluir BMS-936559 (MDX1105, Bristol Myers Squibb), MEDI4736 (MedImmune, AstraZeneca), MPDL3280A (Roche) y MSB0010718C (Merck). Ejemplos del anticuerpo PD1 pueden incluir AMP-224 (Amplimmune, GlaxoSmith Klein), AMP-514 (MEDI0680, Amplimmune, GlaxoSmith Klein), nivolumab (Opdivo, Bristol Myers Squibb), Pembrolizumab (Keytruda, Merck) y Pidilizumab (Cure Tech). Ejemplos del inhibidor de CTLA4 pueden incluir ipilimumab (Yervoy, Bristol Myers Squibb) y tremelimumab (Pfizer).

El cáncer puede ser cáncer sólido o cáncer no sólido. El cáncer sólido se refiere a la aparición de un tumor canceroso en órganos, por ejemplo, el hígado, pulmón, mama, piel o similares. El cáncer no sólido se refiere al cáncer que ocurre en la sangre y también se conoce como cáncer de sangre. El cáncer puede ser carcinoma, sarcoma, cáncer derivado de células hematopoyéticas, tumor de células germinales o blastoma. El carcinoma puede ser un cáncer derivado de células epiteliales. El sarcoma puede ser un cáncer derivado de tejidos conectivos (es decir, hueso, cartílago, grasa y nervios) que puede desarrollarse a partir de células derivadas de células mesenquimales fuera de la médula. El cáncer derivado de células hematopoyéticas puede derivarse de células hematopoyéticas que tienden a madurar en los nodos linfáticos y la sangre fuera de la médula ósea. El tumor de células germinales puede ser un cáncer derivado de células pluripotentes. La célula pluripotente a menudo puede estar presente en testículos u ovarios. El blastoma puede derivar de una célula precursora inmadura o tejido embrionario. El cáncer se puede seleccionar del grupo que consiste en melanoma, tumor cerebral de fluido cerebroespinal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, cáncer de mama, timoma, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de vías biliares, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer testicular, espermatocitoma, cáncer de tiroides, cáncer de ovario, cáncer cervical, cáncer de endometrio, linfoma, síndromes mielodisplásicos (SMD), mielofibrosis, leucemia aguda, leucemia crónica, mieloma múltiple, sarcoma y cáncer de piel.

El término "prevención" significa todas las acciones mediante las cuales se retarda la aparición de cáncer mediante la administración de la composición farmacéutica. El término "tratamiento" significa todas las acciones mediante las cuales los síntomas del cáncer han mejorado o se han modificado favorablemente mediante la administración de la composición farmacéutica.

La composición farmacéutica puede incluir además un portador farmacéuticamente aceptable. El portador puede significar incluir excipientes, diluyentes o suplementos. El portador puede seleccionarse del grupo que consiste en lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, xilitol, eritritol, maltitol, almidón, goma de acacia, alginato, gelatina, fosfato de calcio, silicato de calcio, celulosa, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, agua, solución salina fisiológica, un regulador, tal como PBS, hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, talco, estearato de magnesio, aceite mineral y similares. La composición puede incluir un agente de relleno, un agente anticoagulante, un lubricante, un humectante, un sabor, un emulsionante, un antiséptico o similares.

La composición farmacéutica se puede preparar en cualquier formulación con base en métodos convencionales. La composición se puede formular en forma de dosificación oral (por ejemplo, polvo, tableta, cápsula, jarabe, píldora o gránulo) o en forma de dosificación parenteral (por ejemplo, formulación inyectable). Además, la composición se puede preparar en formas de dosificación sistémicas o formas de dosificación tópicas.

La composición farmacéutica puede ser una composición única o composiciones individuales. Por ejemplo, la composición farmacéutica del compuesto de Fórmula I, una sal, solvato, estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación de los mismos puede ser una composición en una forma de dosificación oral, y el factor de activación de linfocitos T puede ser una composición en una forma de dosificación abdominal.

La composición farmacéutica puede incluir el compuesto de Fórmula I, una sal, solvato, estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación de los mismos; y el factor de activación de linfocitos T en una cantidad efectiva. El término "cantidad efectiva" significa una cantidad suficiente para mostrar un efecto de prevención o tratamiento cuando se administra a un sujeto en necesidad de prevención o tratamiento. La cantidad efectiva puede seleccionarla apropiadamente un experto en la técnica dependiendo de la célula o sujeto seleccionado. La cantidad efectiva se puede determinar de acuerdo con factores que incluyen la gravedad de una enfermedad, la edad del paciente, el peso, las condiciones de salud, el sexo, la sensibilidad al fármaco, el tiempo de administración del fármaco, la vía de administración, la tasa de descarga, el período de tratamiento y los fármacos que se mezclan o usan en combinación con la composición y otros factores que son bien conocidos en el campo médico. La cantidad efectiva puede estar en un rango de aproximadamente 0.5 µg a aproximadamente 2 g, aproximadamente 1 µg a aproximadamente 1 g, aproximadamente 10 µg a aproximadamente 500 mg, aproximadamente 100 µg a aproximadamente 100 mg, o aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg con base en la composición farmacéutica.

Una dosis de administración de la composición farmacéutica puede estar, por ejemplo, en un rango de aproximadamente 0.001 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, de aproximadamente 0.01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, o de aproximadamente 0.1 mg/kg a aproximadamente 1 mg/kg para adultos, una vez al día, varias veces al día, una a cuatro veces al mes o una a doce veces al año.

Otro aspecto proporciona un método para prevenir o tratar el cáncer, incluyendo el método la administración del compuesto de Fórmula I de acuerdo con un aspecto, una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos y un factor de activación de linfocitos T a un sujeto.

El compuesto de Fórmula I, una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, el factor de activación de linfocitos T, el cáncer, la prevención y el tratamiento son los mismos que los descritos anteriormente.

El sujeto puede ser humanos, vacas, caballos, cerdos, perros, ovejas, cabras o gatos. El sujeto puede ser un sujeto que tenga cáncer o una alta posibilidad de tener cáncer.

La administración del compuesto, una sal, solvato, estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, y el factor de activación de linfocitos T se puede realizar directamente mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, administración oral, intravenosa, intramuscular, transdérmica, por mucosa, intranasal, intratraqueal o subcutánea. El compuesto, una sal, solvato, estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, y el factor de activación de linfocitos T pueden administrarse sistémica o tópicamente de forma individual o junto con otro compuesto farmacéuticamente activo.

El compuesto, una sal, solvato, estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, y el factor de activación de linfocitos T pueden administrarse de forma simultánea, individual o secuencial.

Una dosis de administración preferida del compuesto, una sal, solvato, estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, y el factor de activación de linfocitos T pueden diferir dependiendo de las condiciones y el peso corporal del paciente, la gravedad de la enfermedad, la formulación del fármaco, la vía de administración, y período, pero puede ser seleccionado adecuadamente por un experto en la técnica. La dosis de administración puede estar, por ejemplo, en un rango de aproximadamente 0.001 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, aproximadamente 0.01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, o aproximadamente 0.1 mg/kg a aproximadamente 1 mg/kg para adultos, una vez al día, varias veces al día, una a cuatro veces al mes, o una a doce veces al año.

Ahora se hará referencia en detalle a realizaciones, ejemplos de las cuales se ilustran en los dibujos adjuntos, en los que números de referencia similares se refieren a elementos similares en todas partes. A este respecto, las presentes

realizaciones pueden tener diferentes formas y no deben interpretarse como limitadas a las descripciones aquí expuestas. Por consiguiente, las realizaciones se describen simplemente a continuación, haciendo referencia a las figuras, para explicar aspectos de la presente descripción. Como se usa en este documento, el término "y/o" incluye todas y cada una de las combinaciones de uno o más de los ítems listados asociados.

- 5 En lo sucesivo, la presente invención se describirá con más detalle con referencia a los Ejemplos. Sin embargo, estos Ejemplos tienen únicamente fines ilustrativos y no se pretende que la invención esté limitada por estos Ejemplos.

Ejemplo 1. Prueba de efectos antitumorales en modelo de ratón xenotrasplantado con células de melanoma

1. Preparación del modelo de ratón y fármaco

- 10 Con el fin de validar los efectos antitumorales in vivo, se adquirieron ratones hembra SPF C57BL/6 de 5 semanas de edad de Koatech Co. (Corea del Sur). Estos ratones se mantuvieron en una habitación controlada a una temperatura de aproximadamente 22 °C mientras se les suministraba comida y agua libremente. Una semana después, se inyectaron  $5 \times 10^4$  células de la línea celular de melanoma B16F10 (ATCC, CRL-6475™) a estos ratones de 6 semanas de edad mediante inyección subcutánea. En el experimento se utilizaron ratones de 8 semanas de edad, 2 semanas después de la inyección de la línea celular de melanoma.

- 15 Como portador, se mezclaron entre sí 7 ml de ácido gástrico al 37% (v/v), 2.0 g de NaCl, 3.2 g de pepsina (Sigma-Aldrich) y agua destilada para preparar 1,000 ml de fluido gástrico artificial. Como fármaco de administración, se disolvió en el portador N-((4-([1,2,4]triazolo[1,5-a] piridin-6-il)-5-(6-metilpiridin-2-il)-1H-imidazol-2-il)metil)-2-fluoroanilina (en lo sucesivo, denominado como "TEW-7197") (Syngene, India) para preparar 2.5 mg/ml de solución de TEW-7197.

- 20 En cuanto a otro fármaco de administración, anticuerpo monoclonal anti-PD-L1 (preparado solicitando a ANR therapeutics co., Ltd., célula huésped: HEK293F), anticuerpo de hámster monoclonal anti-PD1 (BioXCell, Cat. No. BE0033-2), anticuerpo de hámster monoclonal anti-CTLA4 (BioXCell, No. de cat. BE0131), inmunoglobulina G humana (IgG) (Thermo Scientific, No. de cat. 31154) e IgG monoclonal de hámster (BioXCell, No. de cat. BE0091).

2. Administración del fármaco al modelo de ratón y medición del peso causado por el fármaco de administración

- 25 Los modelos de ratón preparados en 1. se administraron por vía oral con 2.5 mg/ml de una solución de TEW-7197 a una dosis de 25 mg/kg de peso una vez al día durante 5 días consecutivos a la semana. Luego, durante los últimos 2 días, no se les administró la solución TEW-7197. A estos ratones se les administró anticuerpo a una dosis de aproximadamente 100 µg por ratón una vez cada 2 días mediante inyección abdominal. En cuanto a un grupo de control para TEW-7197, se utilizó un grupo al que se administró un portador. En cuanto a un grupo de control para el anticuerpo, se utilizaron un grupo al que se administró IgG humana y un grupo al que se administró IgG de hámster.

Los fármacos administrados a los modelos de ratón se muestran en la Tabla 1.

[Tabla 1]

Grupo (6 ratones/grupo)	Fármaco de administración
1	Vehículo
2	IgG Humano
3	IgG de Hámster
4	Anticuerpo Anti-PD-L1
5	Anticuerpo Anti-PD1
6	Anticuerpo Anti-CTLA4
7	Anticuerpo Anti-PD-L1 + TEW-7197
8	Anticuerpo Anti-PD 1 + TEW-7197
9	Anticuerpo Anti-CTLA4 + TEW-7197
10	TEW-7197

- 35 Desde el día en que se administraron los fármacos (fecha de inicio) hasta el día 11, se midieron los pesos de los ratones cada 2 días. Los cambios en ratones (%) (promedio (%) ± desviación estándar) causados por la administración de fármacos se muestran en la Tabla 2.

[Tabla 2]

Grupo	Fármaco de administración	Días después de la administración					
		Fecha de inicio	2	4	6	8	11
1	Vehículo	100.0 ± 0.0	105.5 ± 1.3	108.6 ± 0.6	111.5 ± 0.7	117.3 ± 1.5	127.2 ± 4.6
2	IgG Humana	100.0 ± 0.0	106.0 ± 0.9	110.5 ± 2.3	112.9 ± 2.6	119.3 ± 3.2	129.9 ± 5.2
3	IgG de hámster	100.0 ± 0.0	104.3 ± 0.7	107.7 ± 1.1	109.4 ± 1.9	118.5 ± 1.4	128.3 ± 3.1
4	Anticuerpo Anti-PD-L1	100.0 ± 0.0	104.2 ± 2.1	107.0 ± 3.7	108.9 ± 4.1	115.0 ± 5.6	125.3 ± 4.9
5	Anticuerpo Anti-PD1	100.0 ± 0.0	103.9 ± 2.5	107.1 ± 2.8	109.1 ± 4.1	117.1 ± 1.9	126.8 ± 1.8
6	Anticuerpo Anti-CTLA4	100.0 ± 0.0	103.8 ± 1.2	106.8 ± 1.7	108.9 ± 1.5	116.6 ± 2.2	126.4 ± 4.9
7	Anticuerpo Anti-PD-LI + TEW-7197	100.0 ± 0.0	104.0 ± 1.0 **	106.5 ± 3.9	108.5 ± 4.3	114.7 ± 4.0	123.9 ± 4.6
8	Anticuerpo Anti-PD1 + TEW-7197	100.0 ± 0.0	103.8 ± 2.5	106.9 ± 3.2	108.7 ± 3.0	116.0 ± 4.0	125.2 ± 3.3
9	Anticuerpo Anti-CTLA4 + TEW-7197	100.0 ± 0.0	103.7 ± 3.3	106.2 ± 1.3	108.2 ± 2.2	116.0 ± 2.9	125.2 ± 2.7
10	TEW-7197	100.0 ± 0.0	104.3 ± 1.2	106.7 ± 3.5	108.7 ± 4.5	115.8 ± 6.4	125.0 ± 6.5

PRUEBA t: \*\* p<0.01 (vs. grupo administrado de IgG humana)

Como se muestra en la Tabla 2, los ratones apenas tuvieron un cambio de peso significativo causado por el anticuerpo anti-PD-LI, el anticuerpo anti-PD1, el anticuerpo anti-CTLA4, TEW-7197 y una combinación de los mismos.

### 3. Prueba de los efectos inhibidores del tumor del fármaco en un modelo de ratón

- 5 Como se describe en 2., se llevó a cabo la administración del fármaco y luego, 20 minutos después de la última dosis del fármaco, se sacrificaron los ratones y se resecaron los tumores de los ratones. El volumen del tumor se midió con calibradores y se calculó usando la Ecuación 1:

[Ecuación 1]

$$\text{Volumen del tumor (mm}^3\text{)} = [\text{longitud (mm)} \times \text{anchura (mm)} \times \text{altura (mm)}]/2$$

- 10 Se calculó la diferencia entre el volumen del tumor inicial ( $V_0$ ) en la fecha de inicio y el volumen del tumor después de la administración del fármaco ( $V_t$ ), para calcular el cambio en el volumen del tumor ( $\Delta t = V_t - V_0$ ). A partir del volumen del tumor calculado, se calculó la tasa de inhibición tumoral (%) por administración de fármaco. Los resultados de los mismos se muestran en la Tabla 3.

[Tabla 3]

Grupo	Fármaco de administración		Días después de la administración					
			Fecha de inicio	2	4	6	8	11
1	Vehículo	Cambio de volumen del tumor <sup>†</sup>	0.0 ± 0.0	38.6 ± 6.3	128.2 ± 18.9	226.7 ± 16.1	590.3 ± 85.9	1371.0 ± 139.3
2	IgG humana	Cambio de volumen del tumor <sup>†</sup>	0.0 ± 0.0	40.3 ± 6.5	135.5 ± 22.4	239.4 ± 25.6	610.4 ± 67.8	1566.9 ± 109.2

Grupo	Fármaco de administración		Días después de la administración					
			Fecha de inicio	2	4	6	8	11
3	IgG de hámster	Cambio de volumen del tumor†	0.0 ± 0.0	46.5 ± 6.9	139.5 ± 20.0	243.0 ± 18.5	600.3 ± 72.3	1468.5 ± 154.9
4	Anticuerpo Anti-PD-L1	Cambio de volumen del tumor†	0.0 ± 0.0	34.5 ± 5.8	115.2 ± 13.2	197.6 ± 30.5 *	497.4 ± 60.1 *	1313.9 ± 112.7 **
		Tasa de inhibición‡		14.4%	15.0%	17.5%	18.5%	16.1 %
5	Anticuerpo Anti-PD1	Cambio de volumen del tumor†	0.0 ± 0.0	41.2 ± 5.8	125.1 ± 8.3	215.7 ± 27.8	536.7 ± 73.0	1354.0 ± 122.3
		Tasa de inhibición‡		11.3%	10.3%	11.2%	10.6%	7.8%
6	Anticuerpo Anti-CTLA4	Cambio de volumen del tumor†	0.0 ± 0.0	40.0 ± 5.6	117.5 ± 11.8 *	206.9 ± 23.5 *	533.3 ± 80.5	1338.3 ± 127.2
		Tasa de inhibición‡		14.1%	15.8%	14.8%	11.1%	8.9%
7	Anticuerpo Anti-PD-L1 + TEW-7197	Cambio de volumen del tumor†	0.0 ± 0.0	29.2 ± 2.8 **	98.5 ± 11.8 **	156.3 ± 33.0 ***	365.3 ± 78.5 ***	934.7 ± 130.3 ***
		Tasa de inhibición‡		27.5%	27.3%	34.7%	40.2%	40.3 %
8	Anticuerpo Anti-PD1 + TEW-7197	Cambio de volumen del tumor†	0.0 ± 0.0	36.7 ± 6.6 *	107.8 ± 19.6 *	175.4 ± 31.0 ***	436.6 ± 61.9 **	1066.2 ± 194.0 **
		Tasa de inhibición‡		21.0%	22.7%	27.8%	27.3%	27.4 %
9	Anticuerpo Anti-CTLA4 + TEW-7197	Cambio de volumen del tumor†	0.0 ± 0.0	34.3 ± 3.7 **	100.1 ± 13.7 **	172.4 ± 30.5 ***	420.7 ± 53.7 ***	1048.2 ± 167.9 **
		Tasa de inhibición‡		26.3%	28.2%	29.0%	29.9%	28.6 %
10	TEW-7197	Cambio de volumen del tumor†	0.0 ± 0.0	30.4 ± 6.6	100.4 ± 11.4 *	174.5 ± 29.6 **	455.3 ± 67.1 *	1084.0 ± 179.5 *
		Tasa de inhibición‡		21.3%	21.7%	23.0%	22.9%	20.9 %

PRUEBA t: \* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001 (vs. grupo administrado con vehículo, grupo administrado de IgG humana, o grupo administrado de IgG de hámster), †:  $\Delta t = V_t - V_0$ , y ‡: tasa de inhibición tumoral (%) (versus grupo administrado con vehículo, grupo administrado de IgG humana o grupo administrado de IgG de hámster)

5 Como se muestra en la Tabla 3, en el undécimo día, la tasa de inhibición tumoral del anticuerpo anti-PD-L1 y el grupo al que se administró TEW-7197 (Grupo 7) fue aproximadamente 2.5 veces mayor que la del grupo al que se administró el anticuerpo anti-PD-L1 (Grupo 4) y aproximadamente 1.9 veces mayor que la del grupo administrado con TEW-7197 (Grupo 10). En el undécimo día, la tasa de inhibición tumoral del grupo al que se administró el anticuerpo anti-PD1 y TEW-7197 (Grupo 8) fue aproximadamente 3.5 veces mayor que la del grupo al que se administró el anticuerpo anti-PD1 (Grupo 5) y aproximadamente 1.3 veces mayor que el del grupo al que se administró TEW-7197 (Grupo 10). En el undécimo día, la tasa de inhibición tumoral del anticuerpo anti-CTLA4 y del grupo al que se administró TEW-7197

(Grupo 9) fue aproximadamente 3.2 veces mayor que la del grupo al que se administró el anticuerpo anti-CTLA4 (Grupo 6) y aproximadamente 1.3 veces mayor que la del grupo al que se administró TEW-7197 (Grupo 10).

5 En consecuencia, se encontró que la combinación de anticuerpo anti-PD-LI, anticuerpo anti-PD1 y anticuerpo anti-CTLA4 como inhibidores del punto de regulación inmunológica y TEW-7197 como un inhibidor del receptor de TGF- $\beta$  tiene un efecto inhibidor de tumor significativo, en comparación con cada uno de los anticuerpos anti-PD-L1, anticuerpo anti-PD1, anticuerpo anti-CTLA4 y TEW-7197.

#### 4. Prueba de combinación sinérgica de fármacos en modelo de ratón

Se llevó a cabo la prueba del efecto inhibidor del tumor mediante una combinación sinérgica de inhibidores de puntos de regulación inmunológica e inhibidor del receptor de TGF- $\beta$ .

10 En detalle, como se describe en 1., se prepararon ratones C57BL/6, y se inyectaron  $1 \times 10^4$  células de la línea celular de melanoma B16F10 (ATCC, CRL-6475™) a cada uno de los ratones. Cuando el tamaño promedio del tumor de cada grupo alcanzó aproximadamente  $26.0 \text{ mm}^3$ , se llevó a cabo la administración del fármaco.

Como se describe en 1., se prepararon como fármacos TEW-7197, anticuerpo anti-CTLA4, anticuerpo anti-PD-LI, anticuerpo anti-PD1, IgG humana e IgG de hámster.

15 A los ratones preparados se les administró por vía oral una solución de TEW-7197 a una dosis de 10 mg/kg de peso una vez al día durante 5 días consecutivos a la semana. Luego, durante los últimos 2 días, no se administró la solución TEW-7197. A estos ratones se les administró anticuerpo a una dosis de aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  por ratón una vez cada 2 días mediante inyección abdominal. En un grupo de control negativo, se administró un vehículo para TEW-7197 y se administró IgG humana o IgG de hámster como anticuerpo. 11 días después de la administración del fármaco, se midió el volumen del tumor con calibradores y se calculó como se describe en 3.

20 El volumen del tumor de acuerdo con las combinaciones de TEW-7197 y anticuerpo anti-CTLA4, anticuerpo anti-PD-LI o anticuerpo anti-PD1 se muestra en las Figs. 1A a 1C.

25 Como se muestra en la FIG. 1A, el volumen del tumor del grupo al que se administró el anticuerpo anti-CTLA4, el grupo al que se administró el TEW-7197 y la combinación del anticuerpo anti-CTLA4 y el grupo al que se administró TEW-7197 disminuyó en aproximadamente un 14.5%, aproximadamente un 10.1% y aproximadamente un 27.1%. en comparación con el volumen del tumor del grupo de control negativo, respectivamente.

30 Como se muestra en la FIG. 1B, el volumen del tumor del grupo al que se administró el anticuerpo anti-PD-LI, el grupo al que se administró TEW-7197 y la combinación del anticuerpo anti-PD-LI y el grupo al que se administró TEW-7197 disminuyó aproximadamente un 15.0%, aproximadamente un 9.2%, y aproximadamente el 28.8%, en comparación con el volumen del tumor del grupo de control negativo, respectivamente.

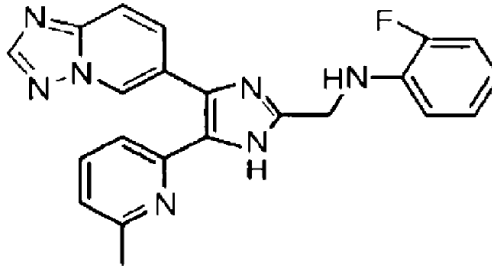
Como se muestra en la FIG. 1C, el volumen del tumor del grupo al que se administró el anticuerpo anti-PD1, el grupo al que se administró el TEW-7197 y la combinación del grupo al que se administró el anticuerpo anti-PD1 y el grupo al que se administró TEW-7197 disminuyó aproximadamente un 9.6%, aproximadamente un 8.1% y aproximadamente un 23.3%, en comparación con el volumen del tumor del grupo de control negativo, respectivamente.

35 En consecuencia, se encontró que la combinación de anticuerpo anti-PD-LI, anticuerpo anti-PD1 y anticuerpo anti-CTLA4 como inhibidores del punto de regulación inmunológica y TEW-7197 como inhibidor del receptor de TGF- $\beta$  tienen un efecto inhibidor tumoral sinérgico, en comparación con cada uno de los anticuerpos anti-PD-LI, anticuerpo anti-PD1, anticuerpo anti-CTLA4 y TEW-7197.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición farmacéutica para uso en la prevención o el tratamiento del melanoma, comprendiendo la composición farmacéutica un compuesto representado por la Fórmula II, una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos:

[Fórmula II]



5

y

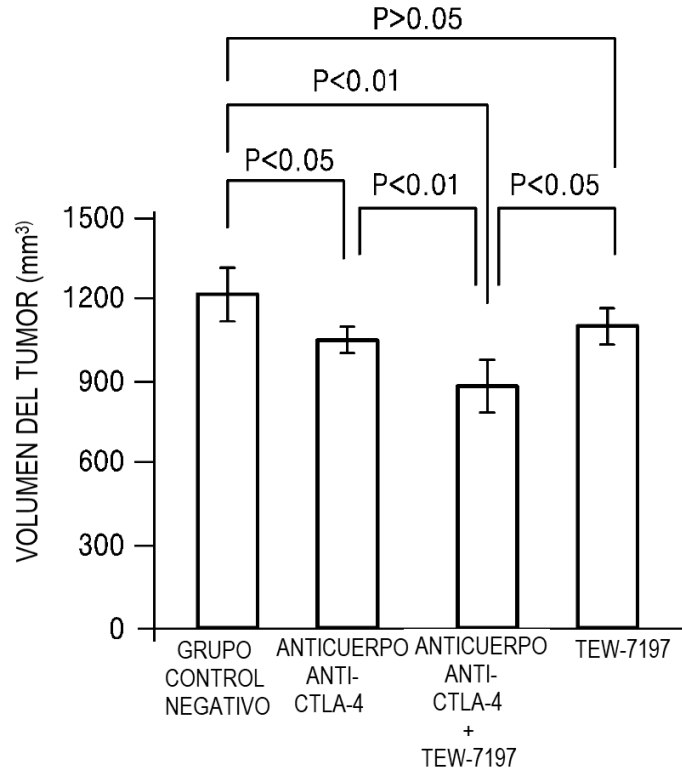
un factor activador de linfocitos T,

10 en la que el factor de activación de linfocitos T se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo de ligando 1 de muerte programada 1 (PD-L1), un anticuerpo de proteína 1 de muerte celular programada (PD1), un anticuerpo de antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA4) , o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

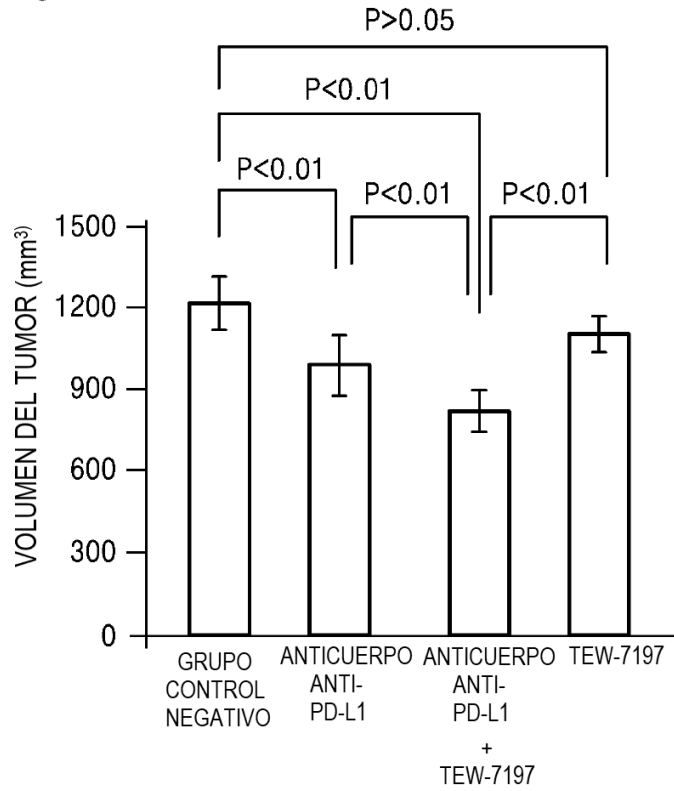
2. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica es una composición única o composiciones individuales.

15 3. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 1, en la que el compuesto de Fórmula II, la sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, o la combinación de los mismos; y el factor de activación de linfocitos T son adecuados para ser administrados de forma simultánea, individual o secuencial.

[Fig. 1A]



[Fig. 1B]



[Fig. 1C]

