



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 354 193**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/425** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **99910257 .7**

96 Fecha de presentación : **23.02.1999**

97 Número de publicación de la solicitud: **1056453**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.12.2000**

54 Título: **Utilización de eptilonas para el tratamiento del cáncer.**

30 Prioridad: **25.02.1998 GB 9803905**  
**25.02.1998 GB 9803907**  
**19.03.1998 GB 9805936**  
**19.03.1998 GB 9805937**  
**19.01.1999 US 233993**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**10.03.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**10.03.2011**

73 Titular/es: **NOVARTIS AG.**  
**Lichtstrasse 35**  
**4056 Basel, CH**  
**NOVARTIS PHARMA GmbH**

72 Inventor/es: **O'Reilly, Terence;**  
**Wartmann, Markus;**  
**Cohen, Pamela y**  
**Litchman, Manuel**

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

ES 2 354 193 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

Utilización de epotilonas para el tratamiento del cáncer.

5 **Resumen de la invención**

La presente invención hace referencia al tratamiento de una enfermedad proliferativa, especialmente de acuerdo con ciertos regímenes de tratamiento que utilizan epotilona B; preferentemente de un tumor gastrointestinal, más preferentemente (1) un tumor del colon y/o recto (tumor colorectal), especialmente si es refractario a (es decir por lo menos uno) un representante de la clase del taxano de los agentes anticancerosos, en particular TAXOL® (paclitaxel en forma formulada para uso clínico), y/o por lo menos un tratamiento estándar con otro agente quimioterapéutico, especialmente 5-fluorouracilo; (2) un tumor del tracto genitourinario, más preferentemente un tumor de la próstata, incluyendo tumores primarios y metastásicos, especialmente si es refractario a un tratamiento hormonal (“cáncer de próstata refractario a hormonas”) y/o tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos estándares; (3) un tumor epidermoide, más preferentemente un tumor epidermoide de cabeza y cuello, más preferentemente un tumor de boca; (4) un tumor de pulmón, más preferentemente un tumor de pulmón de células no pequeñas, especialmente cualquiera de estos tumores que son refractarios al tratamiento con uno o más de los otros agentes quimioterapéuticos (especialmente debido a la resistencia a múltiples fármacos), especialmente al tratamiento con un miembro de la clase taxano de los agentes anticancerosos, en particular TAXOL®; o (5) un tumor de mama, más preferentemente uno que es resistente a múltiples fármacos, especialmente refractario al tratamiento con un miembro de la clase taxano de los agentes anticancerosos, en particular TAXOL®; que se relaciona especialmente también con el tratamiento de un tumor de pulmón resistente a múltiples fármacos (preferentemente un tumor de pulmón de células no pequeñas), un tumor de mama resistente a múltiples fármacos, o un tumor epidermoide resistente a múltiples fármacos, o en un sentido más amplio de la invención, a un programa de tratamiento para el tratamiento de un tumor antes mencionado o (en un sentido más amplio de la invención) cualquier otro tumor, especialmente si es refractario a uno o más agentes quimioterapéuticos, especialmente resistente a múltiples fármacos y/o refractario a TAXOL®, tales como melanoma, cáncer de ovarios, cáncer de páncreas, neuroblastoma, cáncer de cabeza y cuello o cáncer de vejiga, o en un sentido más amplio, cáncer renal, cerebral o gástrico; mediante la administración de epotilona B; el término “tratamiento” también abarca (i) un método de tratamiento para (= para tratar) dicha enfermedad que comprende la administración de dicho agente citotóxico (epotilona B, en cada caso preferentemente junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable) a un animal de sangre caliente, especialmente si necesita dicho tratamiento, en una cantidad terapéuticamente efectiva, en por lo menos un tratamiento; (ii) la utilización de dicho agente citotóxico, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa; (iii) la utilización de dicho agente citotóxico para la fabricación de una preparación farmacéutica para el tratamiento de dicha enfermedad proliferativa (que comprende la mezcla de dicho agente citotóxico con un excipiente farmacéuticamente aceptable); (iv) una preparación farmacéutica que comprende una dosis de dicho agente citotóxico que es apropiada para el tratamiento de dicha enfermedad proliferativa. La invención está dirigida, en una realización preferente, a un tratamiento de pacientes (humanos) o grupos de pacientes donde han fallado otros tratamientos, especialmente tratamientos estándares con otros agentes quimioterapéuticos, especialmente 5-fluorouracilo; o terapia con miembros de la clase taxano de los agentes anticancerosos, tales como el TAXOL®. También hace referencia a una epotilona, especialmente epotilona B, para su utilización en el tratamiento de una enfermedad proliferativa, especialmente donde dicha enfermedad es refractaria a un tratamiento con una terapéutica estándar.

**Antecedentes de la invención**

El cáncer aún representa un importante problema médico por resolver. El tratamiento inicial de la enfermedad es usualmente la cirugía, el tratamiento de irradiación o la combinación de ambos, pero la enfermedad (metastásica) recidivante es común. Los tratamientos quimioterapéuticos para la mayoría de los cánceres no son generalmente curativos, sino que sólo retrasan la progresión de la enfermedad. Normalmente, los tumores y sus metástasis se vuelven refractarios a la quimioterapia, en lo que se conoce como desarrollo de resistencia a múltiples fármacos. En muchos casos, los tumores son intrínsecamente resistentes a algunas clases de agentes quimioterapéuticos [véase DeVita V.T., *Principles of Cancer Management: Chemotherapy*. En: *Cancer. Principles and Practice of Oncology*. DeVita V.T. *et al* (eds.), 5th edition, Lippincott-Raven, Philadelphia, New York (1977), pp. 333-347; o Cleton, F.J., *Chemotherapy: general aspects*. En: *Oxford Textbook of Oncology*; Peckham, M., *et al*, Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo (1995), Vol. 1, pp. 445-453]. Este es, por ejemplo, el caso para los tumores de pulmón, especialmente el carcinoma de pulmón de células no pequeñas, o también para los tumores epidermoides, como los tumores epidermoides de cabeza y cuello, especialmente de boca, o también para los tumores de mama. Otros mecanismos por los cuales los tumores no son tratables (son refractarios al tratamiento) pueden ser, por ejemplo, la presencia de mutaciones de la tubulina o los mecanismos mediados por glutatión.

El cáncer intestinal, especialmente colorectal, define un caso especial de las necesidades médicas en el tratamiento del cáncer aún no satisfechas. El tratamiento inicial de la enfermedad es usualmente la cirugía, el tratamiento de irradiación o la combinación de ambos, pero la enfermedad (metastásica) recidivante es común. Los tratamientos quimioterapéuticos de primera línea para el cáncer colorectal recidivante incluyen el 5-fluorouracilo. Pero este tratamiento proporciona, en el mejor de los casos, el retraso de la progresión de la enfermedad dado que los tumores usualmente se vuelven refractarios al tratamiento. La quimioterapia de esta etapa refractaria de la enfermedad implica la utilización de otros agentes citotóxicos clásicos, pero todos son considerados inadecuados [véase Cohen *et al.*, *Cancer of the colon*. En: *Cancer. Principles and Practice of Oncology*; Delta *et al.* (eds.), 5th edition, Lippincott Raven, Philadelphia, New York 1997, pp. 1144-1197; o Rowinsky, *Ann. Rev. Med.* 48, 353-74 (1997)]. También para el cáncer del tracto

genitourinario, especialmente el cáncer de próstata, otra necesidad médica aún no resuelta, el tratamiento inicial es tal como se ha mencionado anteriormente para el cáncer colorectal, que muestra problemas similares. El tratamiento quimioterapéutico de primera línea para el cáncer de próstata recidivante incluye antiandrógenos, y la recurrencia es frecuentemente andrógeno dependiente. Pero este tratamiento sólo retrasa la progresión de la enfermedad dado que los tumores casi siempre se vuelven refractarios a los antiandrógenos en un periodo dentro de los 6 meses a 2 años (tumores de próstata refractarios a hormonas). La quimioterapia de esta etapa refractaria a los antiandrógenos de la enfermedad implica la utilización de mitoxantrona u otros agentes citotóxicos antineoplásicos clásicos, pero todos se consideran inadecuados [véase Oesterling *et al.*, Cancer of the prostate. En: Cancer. Principles and Practice of Oncology. DeVita, V.T., *et al.* (eds.), 5th edition. Lippincott-Raven, Philadelphia, New York 1997, pp 1322-86; Stemberg, Cancers of the genitourinary tract. En: Cavalli *et al.* (eds.), Textbook of Medical Oncology; o Roth, B. J., Semin. Oncol. 23(6 Suppl. 14), 49-55 (1996)].

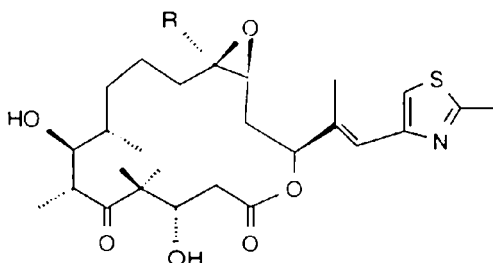
Entre los agentes citotóxicos para el tratamiento de tumores, TAXOL® (paclitaxel), un agente estabilizante de microtúbulos, se ha vuelto un compuesto muy importante con un éxito económico extraordinario [véase Rowinsky E.K., The development and clinical utility of the taxano class of antimicrotubule chemotherapy agents; Ann. Rev. Med. 48, 353-374 (1997)]. D. Su *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 36 (19) 2093-2096 (1997) - *expone las relaciones estructura-actividad de las epotilonas y la primera comparación in vivo con Paclitaxel.*

Sin embargo, el TAXOL® tiene una serie de desventajas. Especialmente, su solubilidad extremadamente baja en agua representa un problema grave. Se ha vuelto necesario administrar TAXOL® en una formulación con CremophorEL® (aceite de castor polioxietilado; BASF, Ludwigshafen, Alemania) que tiene efectos secundarios severos, que causa, entre otras cosas, reacciones alérgicas que en un caso incluso se informó que causaron la muerte de un paciente. Más severamente, se sabe que ciertos tipos de tumores son refractarios al tratamiento con TAXOL® incluso cuando el fármaco se administra como terapia de primera línea, o los tumores desarrollan resistencia al TAXOL® después de múltiples ciclos de exposición.

Aunque la clase taxano de los agentes anticancerosos antimicrotúbulos ha sido aclamada como “quizás la más importante aportación al armamentario quimioterapéutico contra el cáncer en las últimas décadas” [véase Rowinsky E.K., Ann. Rev. Med. 48, 353-374 (1997)] y pese al éxito comercial del TAXOL®, aún existen limitaciones a la eficacia del TAXOL®. El tratamiento con TAXOL® se asocia con una serie de efectos secundarios importantes y algunas de las principales categorías de tumores sólidos, a saber de colon y próstata, son escasamente receptivos a este compuesto (véase Rowinsky E.K., loc. cit.). Específicamente, como un agente único, el TAXOL® ha sido considerado como escasamente activo clínicamente en cánceres colorectales, renales, prostáticos, pancreáticos, gástricos y cerebrales [véase Rowinsky E.K., loc. cit.; Bitton, R.J., *et al.*, Drug Saf. 12, 196-208 (1995); o Arbut, S.G., *et al.*, J. Natl. Cancer Inst. Monogr. 15, 11-24 (1993)]. Por ejemplo, la efectividad del TAXOL® se puede ver seriamente limitada por los mecanismos de resistencia al fármaco adquiridos que ocurren mediante diferentes mecanismos, tales como la sobreexpresión de fosfoglicoproteínas que funcionan como bombas de flujo de fármacos.

Por lo tanto, existe una necesidad urgente de encontrar compuestos y regímenes de dosificación apropiados con estos compuestos para expandir el armamentario del tratamiento del cáncer, especialmente en la mayoría de los casos donde el tratamiento con taxanos y otros compuestos anticancerosos no está asociado con la supervivencia a largo plazo.

Las epotilonas, especialmente las epotilonas A y B, representan una nueva clase de agentes citotóxicos estabilizadores de microtúbulos (véase Gerth, K. *et al.*, J. Antibiot. 49, 560-3 (1996); o Hoefle *et al.*, DE 41 38 042), por ejemplo con las fórmulas:



en donde R es hidrógeno (epotilona A) o metilo (epotilona B).

Estos compuestos tienen las siguientes ventajas:

- (i) muestran mejor solubilidad en agua que el TAXOL, y son por consiguiente más apropiados para la formulación: y

- (ii) se ha informado, en los experimentos de cultivo celular, que son activos también contra la proliferación de células que, debido a la actividad de la bomba de efecto P-glicoproteína que las hace resistentes a múltiples fármacos, muestran resistencia al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos, por ejemplo TAXOL<sup>®</sup> [véase Bollag, D. M., *et al.*, “Epothilones, a new class of microtubule-stabilizing agents with a Taxol-like mechanism of action”, *Cancer Research* 55, 2325-33 (1995); y Bollag D.M., *Exp. Opin. Invest. Drugs* 6, 867-73 (1997)]; y
- (iii) a pesar de compartir aparentemente el mismo sitio, o un sitio de unión estéricamente próximo sobre el microtúbulo, se ha mostrado que las epotilonas son activas contra una línea celular de carcinoma de ovario resistente al TAXOL<sup>®</sup> con una  $\beta$ -tubulina alterada [véase Kowalski, R. J., *et al.*, *J. Biol. Chem.* 272(4), 2534-2541 (1997)].

Por otro lado, son altamente tóxicas y por lo tanto su utilidad en el tratamiento del cáncer *in vivo* se consideró prácticamente imposible [ver, por ejemplo, *PNAS* 95, 9642-7 (1998)]. Por lo tanto, la presente invención muestra de una forma inesperada que, efectivamente, es posible encontrar los regímenes de dosis que permiten, por una parte, tratar tumores con epotilonas, especialmente epotilona B; y por otra parte permite el tratamiento de ciertos grupos de pacientes que no responden a otros tipos de tratamientos, ya sea por resistencia a múltiples fármacos, como con taxano, por ejemplo TAXOL<sup>®</sup>, refractariedad debido a la resistencia a múltiples fármacos, y/o cualquier otro mecanismo.

La presente invención tiene el objeto de presentar por primera vez regímenes *in vivo* para un tratamiento útil con epotilona B, que permite el tratamiento de una enfermedad tumoral, por ejemplo un melanoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, neuroblastoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer renal, cerebral, gástrico o preferentemente un cáncer colorectal, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón (especialmente cáncer de pulmón de células no pequeñas) o cáncer epidermoide, por ejemplo cáncer epidermoide de cabeza y cuello, especialmente cáncer epidermoide de boca.

Aunque el programa de tratamiento general permite el tratamiento de diferentes tipos de tumores ya en el tratamiento de primera línea, la presente invención hace referencia, preferentemente, al tratamiento de tumores que se puede esperar que sean, o que han demostrado ser, refractarios al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos, por ejemplo el tratamiento estándar con uno o más agentes quimioterapéuticos, especialmente con 5-fluorouracilo y/o taxano, por ejemplo el tratamiento con TAXOL<sup>®</sup>.

Sorprendentemente, se ha encontrado ahora que incluso la proliferación de las células tumorales y los tumores que son refractarios al tratamiento estándar con otros agentes quimioterapéuticos, por ejemplo 5-fluorouracilo; y/o al tratamiento con un miembro de los compuestos de la clase taxano, muy especialmente el TAXOL<sup>®</sup>, especialmente de un tumor colorectal, especialmente uno que también es refractario al tratamiento estándar, por ejemplo con 5-fluorouracilo; o de un tumor de pulmón, especialmente un cáncer de pulmón de células no pequeñas; un tumor epidermoide, más preferentemente epidermoide de cabeza y cuello, tales como el tumor de boca; o un tumor de mama; y/o metástasis del mismo se pueden debilitar o detener y que incluso es posible la regresión o la desaparición del tumor.

### Descripción detallada de los aspectos preferentes de la invención

La presente invención aborda preferentemente la siguiente temática como parte de la invención:

Siempre que se menciona dentro de toda esta especificación “el tratamiento de una enfermedad proliferativa” o de un tumor, cáncer o similar, se entiende

- a) la utilización de epotilona B, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, o epotilona B, para la utilización en el tratamiento de dicha enfermedad (especialmente en un humano); en una dosis que permite el tratamiento de dicha enfermedad (= una cantidad terapéuticamente efectiva), preferentemente en una dosis (cantidad) que se especificó como preferente con anterioridad y a continuación en este documento;
- b) la utilización de epotilona B, para la elaboración de una preparación farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad proliferativa; en una dosis que permite el tratamiento de dicha enfermedad (= una cantidad terapéuticamente efectiva), preferentemente en una dosis (cantidad) que se especificó como preferente con anterioridad y a continuación en este documento; lo que significa que la enfermedad tumoral respectiva se puede ubicar bajo los anteriores a) a b) en lugar de “enfermedad proliferativa”, de acuerdo con el tema patentable: preferentemente, cualquier tratamiento bajo a) a b) hace referencia a un tratamiento de humanos.

Esta aplicación describe el tratamiento de una enfermedad proliferativa que es refractaria al tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos, donde la epotilona B, se administra a un animal de sangre caliente, especialmente un humano, preferentemente un humano que necesita dicho tratamiento, especialmente en una cantidad terapéuticamente efectiva.

## ES 2 354 193 T3

La presente invención hace referencia a un régimen *in vivo* para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, especialmente un cáncer que es refractario al tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos, especialmente de la clase taxano, como el TAXOL<sup>®</sup>, y/o 5-fluorouracilo, donde la epotilona B, se administra en una dosis que está entre aproximadamente del 1 al 100%, preferentemente entre alrededor del 25 al 100%, de la dosis máxima tolerada (MTD, por sus siglas en inglés) (en una única administración) a un animal de sangre caliente, especialmente un humano: y una o más (preferentemente de dos a siete) dosis adicionales, preferentemente cada una dentro del rango de dosis antes mencionado, se administran en uno o, preferentemente, más de un ciclo o ciclos de tratamiento adicional, especialmente con un intervalo entre los ciclos de tratamiento de una semana o más de una semana después del tratamiento anterior, más preferentemente después de alrededor de una a 6 semanas, más preferentemente alrededor de una a tres semanas después del tratamiento anterior, respectivamente. Generalmente, se prefiere este régimen de tratamiento donde una dosis alta se administra en dos o más ciclos de tratamiento con períodos de tiempo de entre una a seis, preferentemente de una a tres semanas de tiempo entre administraciones de los tratamientos más frecuentes con dosis más bajas, especialmente dado que debería reducir la frecuencia y la duración de la hospitalización y ya que muestra efectos antitumorales superiores y menor toxicidad que los tratamientos más frecuentes, y mayor eficacia antitumoral que el tratamiento menos frecuente.

Preferentemente, para la epotilona B la dosis que se utiliza en humanos se calcula de acuerdo con la fórmula (I)

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } y) \times N \quad \text{(I)}$$

donde N (un número entero (como 1, 2 ó 3) o fracción (como 1,5 ó 2,3) siempre que se menciona con anterioridad y a continuación en este documento)) es el número de semanas entre los tratamientos (preferentemente un número en el rango de 1 a 6 (correspondiente a un intervalo de alrededor de 1 a alrededor de 6 semanas), especialmente 1 a 3 (correspondiente a un intervalo preferente de 1 a 3 semanas) e y es 6 o preferentemente 5, más preferentemente 4.

Más preferentemente, la dosis de tratamiento se calcula de acuerdo con la fórmula II

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 2,5) \times N; \quad \text{(II);}$$

incluso más preferentemente de acuerdo con la fórmula III,

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 1,7) \times N; \quad \text{(III);}$$

o más preferentemente de acuerdo con la fórmula IV

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 1) \times N; \quad \text{(IV)}$$

donde, en cada fórmula de la II a la IV, N tiene el significado dado bajo la fórmula I. Para las dosis calculadas de acuerdo con cualquiera de las fórmulas de la I a la IV, se debe cumplir con la siguiente condición: La dosis, incluso si se calcula más alta, no debe exceder alrededor de los 18 mg/m<sup>2</sup> para una única administración.

Preferentemente, para el tratamiento semanal la dosis es entre 0,1 y 6, preferentemente entre 0,1 y 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre 0,1 y 3 mg/m<sup>2</sup>, incluso más preferentemente entre 0,1 y 1,7 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre 0,3 y 1 mg/m<sup>2</sup>; para el tratamiento de tres semanas (tratamiento cada tres semanas o cada tercer semana) la dosis es entre 0,3 y 18 mg/m<sup>2</sup>, preferentemente entre 0,3 y 15 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre 0,3 y 12 mg/m<sup>2</sup>, incluso más preferentemente entre 0,3 y 7,5 mg/m<sup>2</sup>, aún más preferentemente entre 0,3 y 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre 1,0 y 3,0 mg/m<sup>2</sup>. Esta dosis se administra preferentemente al humano mediante administración intravenosa (iv) durante 2 a 180 minutos, preferentemente de 2 a 120 minutos, más preferentemente durante 5 a 30 minutos, más preferentemente durante 10 a 30 minutos, por ejemplo durante aproximadamente 30 minutos.

Preferentemente, especialmente en el caso del tratamiento semanal, los períodos de más de una semana, más preferentemente de dos a diez semanas, más preferentemente de tres a seis semanas después del tratamiento anterior pueden ser necesarios después de por ejemplo 3, 4, 6, 8, o más ciclos de tratamiento, según la condición del paciente, para permitir la suficiente recuperación del tratamiento anterior.

Esta aplicación describe el régimen *in vivo* para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, especialmente una que es refractaria al tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos, donde la epotilona B, se administra semanalmente a un animal de sangre caliente, especialmente un humano, en una dosis que está por debajo del 80%, más preferentemente por debajo del 50% de la dosis máxima tolerada (MTD).

## ES 2 354 193 T3

Esta aplicación describe el tratamiento *in vivo* de una enfermedad proliferativa que es refractaria al tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos, especialmente 5-fluorouracilo o un agente estabilizante de microtúbulos de la clase del taxano, especialmente TAXOL<sup>®</sup>, por ejemplo un tumor resistente a múltiples fármacos, donde la epotilona B, se administra a un animal de sangre caliente, especialmente un humano.

Esta aplicación describe el tratamiento *in vivo* de una enfermedad proliferativa, especialmente una que es refractaria al tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos, mediante la administración combinada (a) de epotilona B, en combinación con (b) otro quimioterapéutico antitumoral, siendo preferentemente el tratamiento previsto de modo que el componente (a) y (b) se administren a un animal de sangre caliente, especialmente un humano (especialmente que necesite dicho tratamiento), en combinación en una cantidad que es en conjunto terapéuticamente efectiva contra una enfermedad proliferativa que se puede tratar preferentemente mediante la administración de epotilona B; efectuándose dicha administración a un humano que tiene un tumor que es refractario a otros tratamientos quimioterapéuticos, por ejemplo al tratamiento especialmente con 5-fluorouracilo o especialmente con un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos, como el TAXOL<sup>®</sup>.

Esta aplicación describe una preparación combinada que comprende componentes (a) y (b) como se definieron en el párrafo anterior.

Esta aplicación describe un producto que comprende el componente (a) y el componente (b) como se definieran anteriormente en el párrafo anterior al precedente, en presencia o ausencia de uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, como una preparación combinada para la administración simultáneamente o cronológicamente progresiva a un animal de sangre caliente, especialmente un humano, dentro de un período de tiempo que es suficientemente pequeño para que los compuestos activos tanto del componente (a) como del componente (b) incrementen mutuamente la actividad antiproliferativa (especialmente contra las células en proliferación) en dicho animal de sangre caliente, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa.

Los términos generales utilizados anteriormente y a continuación en este documento preferentemente tienen los siguientes significados, a menos que se defina lo contrario:

Una enfermedad proliferativa es principalmente una enfermedad tumoral (o cáncer) (y/o cualquier metástasis), donde sea que el tumor o la metástasis se localicen), más especialmente un tumor seleccionado de entre el grupo que comprende el cáncer de mama, cáncer genitourinario, cáncer de pulmón, cáncer gastrointestinal, cáncer epidermoide, melanoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, neuroblastoma, cáncer de cabeza y cuello (este término, siempre que se usa, significa un cáncer de cabeza y/o cuello, es decir que se incluye no sólo un cáncer de cabeza y cuello, sino también de cabeza o cuello) o cáncer de vejiga, o en un sentido más amplio cáncer renal, cerebral o gástrico; más preferentemente (i) un tumor seleccionado de entre un tumor de mama; un tumor epidermoide, especialmente un epidermoide de cabeza y cuello, preferentemente un tumor de boca; y un tumor de pulmón, especialmente un tumor de pulmón de células no pequeñas, o de entre un tumor gastrointestinal, especialmente un tumor colorectal; y un tumor genitourinario, especialmente un tumor de próstata (especialmente un tumor de próstata refractario a las hormonas); o (ii) (más preferentemente) una enfermedad proliferativa que es refractaria al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos, especialmente un tumor correspondiente (y/o cualquier metástasis), más especialmente un tumor seleccionado de entre el grupo que comprende los tumores que son refractarios al tratamiento estándar con otro(s) agente(s) quimioterapéutico(s), especialmente con 5-fluorouracilo y/o (preferentemente) un agente estabilizante de los microtúbulos de la clase del taxano, más especialmente TAXOL<sup>®</sup>, aún más preferentemente un tumor seleccionado de entre un cáncer gastrointestinal, por ejemplo cáncer colorectal (especialmente refractario al tratamiento estándar, por ejemplo con 5-fluorouracilo, y/o TAXOL<sup>®</sup>); y cáncer genitourinario, por ejemplo tumores prostáticos (y/o una metástasis de los mismos, especialmente una metástasis de los mismos); más preferentemente un tumor gastrointestinal, especialmente un cáncer colorectal; o (iii) un tumor que es refractario al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos debido a la resistencia a múltiples fármacos, especialmente refractario a un miembro de la clase del taxano de los agentes estabilizantes de microtúbulos, preferentemente TAXOL<sup>®</sup>, más especialmente a múltiples fármacos, especialmente TAXOL<sup>®</sup>, tumor de pulmón resistente (especialmente un tumor de pulmón de células no pequeñas), un tumor de mama resistente a múltiples fármacos, o un tumor epidermoide resistente a múltiples fármacos, preferentemente epidermoide de cabeza y cuello, más preferentemente de boca.

En un sentido más amplio de la invención, una enfermedad proliferativa se puede además seleccionar de entre las enfermedades hiperproliferativas tales como las hiperplasias, fibrosis (especialmente las pulmonares, pero también otros tipos de fibrosis, tales como la fibrosis renal), angiogénesis, psoriasis, aterosclerosis y la proliferación de músculo liso en los vasos sanguíneos, tales como estenosis o restenosis después de la angioplastia.

Donde se menciona anteriormente y posteriormente en este documento un tumor, una enfermedad tumoral, un carcinoma o un cáncer, se supone alternativamente o además metástasis en el órgano o tejido original y/o en cualquier otra ubicación, independientemente de la ubicación del tumor y/o la metástasis.

La palabra "refractario" significa que la enfermedad proliferativa respectiva (especialmente un tumor y/o cualquier metástasis de la misma), ante el tratamiento con un (es decir, por lo menos uno) agente quimioterapéutico que no sea una epotilona, no muestra ninguna o sólo una débil respuesta antiproliferativa (ninguna o sólo una débil inhibi-

## ES 2 354 193 T3

ción del crecimiento del tumor) después del tratamiento con dicho agente, es decir, un tumor que no se puede tratar en absoluto o sólo con resultados insatisfactorios con otros agentes quimioterapéuticos (preferentemente estándar) (preferentemente como se definió anteriormente, especialmente 5-fluorouracilo (especialmente en el caso de cáncer colorectal, como el cáncer de colon), antiandrógenos, como el letrozol (especialmente en el caso del cáncer de mama);  
5 o especialmente un miembro de la clase del taxano de los agentes quimioterapéuticos, por ejemplo TAXOTERE® o TAXOL®, en un animal de sangre caliente, especialmente un humano; por ejemplo no se detiene el crecimiento del tumor, sólo se retrasa ligeramente o no se descubre regresión. En la presente invención, donde se menciona el tratamiento de tumores refractarios y similares, se debe entender que abarca no sólo un tumor o tumores donde uno o más agentes quimioterapéuticos ya han fallado durante el tratamiento de un paciente, sino también un tumor o tumores  
10 que se demuestra que son refractarios mediante otros medios, por ejemplo biopsia y cultivo en la presencia de agentes quimioterapéuticos.

Donde se usa un término como “refractario ante el TAXOL®” anteriormente y posteriormente en este documento, este término, tiene la intención de significar también paclitaxel, la sustancia activa del TAXOL® además del producto terminado. “Refractario al tratamiento hormonal” o “refractario a hormonas”, en el caso de un tumor del tracto  
15 genitourinario, especialmente un tumor de próstata, significa refractario al tratamiento con un antiandrógeno.

TAXOL® preferentemente significa el producto final que comprende paclitaxel, pero, en un sentido más amplio, también se entiende que abarca al mismo paclitaxel de cualquier otra formulación con uno o más excipientes.  
20

Preferentemente, el término refractario significa que se obtiene con una dosis estándar una reducción del crecimiento del tumor de menos del 50% (es decir un valor T/C% igual a o superior al 50%) cuando se compara con un control sin agente quimioterapéutico, por ejemplo mediante mediciones *in vivo* o *in vitro*.

Una enfermedad tumoral resistente a múltiples fármacos es una donde se encuentra la resistencia a uno o más agentes quimioterapéuticos, incluyendo aquellos de la clase del taxano, especialmente TAXOL®, o de la clase de la antraciclina, especialmente ADRIAMYCIN®. El fundamento para esta resistencia es la exportación a través de una bomba dependiente de energía (especialmente ATP) ubicada sobre la superficie de las células del tumor respectivo, especialmente de la familia de la P-glicoproteína, especialmente de la propia P-glicoproteína (P-gp). En la presente invención, alternativa o adicionalmente otros mecanismos pueden hacer que un tumor sea refractario al tratamiento con agentes quimioterapéuticos que no sean una epotilona. Por ejemplo, las alteraciones de la diana del fármaco (especialmente microtúbulos en el presente caso), cambios en el metabolismo intracelular que podrían hacer que el compuesto se vuelva inactivo, o cambios en la fisiología de la célula que podrían facilitar que se evite o se anule el mecanismo de la acción del fármaco pueden conducir a tal resistencia.  
35

El término “otros agentes quimioterapéuticos” o “agente quimioterapéutico estándar”, indica especialmente cualquier agente quimioterapéutico que no sea una epotilona; preferentemente uno como se definió en la introducción, especialmente 5-fluorouracilo (especialmente en el caso del cáncer colorectal, como el cáncer de colon), un antiandrógeno o una mitoxantrona (especialmente en el caso del cáncer de próstata), o un antiestrógeno, como el letrozol (especialmente en el caso del cáncer de mama); especialmente, el término hace referencia al 5-fluorouracilo o (más preferentemente) a miembros de la clase del taxano de agentes estabilizantes de microtúbulos, tales como preferentemente Taxotere o más preferentemente TAXOL. “Tratamiento estándar con otros agentes quimioterapéuticos”, “tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos” o “quimioterapia estándar” hacen referencia al tratamiento con por lo menos uno de dichos “otros” o “terapéutica estándar”.  
45

El término epotilona hace referencia a la epotilona B.

La administración en todos los casos mencionados anteriormente y posteriormente puede efectuarse en forma oral, en vista de una biodisponibilidad cada vez mejor definida, más preferentemente se realiza en forma parenteral, especialmente de modo intravenoso, por ejemplo mediante infusión o inyección. Donde posteriormente se usa “infusión”, significa preferentemente infusión intravenosa, que es el modo más preferente de administración.  
50

Posteriormente, los datos para los adultos son la base para la ilustración. Sin embargo, es evidente que la presente invención también hace referencia al tratamiento de enfermedades proliferativas en pediatría. Las dosis deben corregirse de acuerdo con los métodos estándar y la edad, condición y otras características del paciente.  
55

La Dosis Máxima Tolerada (MTD) se determina de acuerdo con los procedimientos estándares; preferentemente, en los animales de sangre caliente la MTD en el caso de administración oral o intravenosa se determina como la Dosis de una única administración, donde no tiene lugar la muerte y se descubre una pérdida de peso corporal de menos del 40, preferentemente menos del 25, por ciento (%) en el individuo animal de sangre caliente tratado (este término aquí principalmente hace referencia a un animal; para los humanos véase más abajo).  
60

La MTD puede variar según la población de pacientes, que puede definirse por el tipo de tumor, rango de edad, sexo, etapa del tumor y similares. Mientras que en animales, el modo más preferente de determinar la MTD puede ser análogo al que se muestra en los Ejemplos presentados más abajo, en humanos la MTD generalmente puede determinarse mediante el comienzo con una administración única de una dosis muy baja, por ejemplo 1/10 de la LD<sub>10</sub> (es decir, la dosis que es letal para 10% de los animales) en la especie animal más sensibles en la cual se han realizado los estudios toxicológicos, por ejemplo para epotilonas (especialmente epotilona B) en el rango entre 0,1 y 25  
65

## ES 2 354 193 T3

mg/m<sup>2</sup>, especialmente para la epotilona B en el rango entre 0,1 y 2,5 mg/m<sup>2</sup>, más especialmente en el rango de 0,1 y 0,33 mg/m<sup>2</sup>. El incremento de la dosis para el siguiente nivel de dosis es 100%, a menos que se vea una toxicidad grado 2 de acuerdo con los Criterios de Toxicidad Común Revisados del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos, en cuyo caso el incremento de dosis será 67%. El incremento de dosis para los niveles de dosis posteriores está en el rango entre 25% y 67%. Por ejemplo, se trata usualmente tres pacientes con un nivel de dosis y se observa la presencia de toxicidad aguda por un ciclo de tratamiento antes de que se ingrese algún otro paciente. Si ninguno de los tres pacientes experimenta DLT (toxicidad limitante de dosis, por sus siglas en inglés), después se trata la nueva cohorte de tres pacientes con la dosis superior siguiente. Si dos o más de los tres pacientes experimentan DLT, entonces se trata a otros tres pacientes con la dosis inferior siguiente a menos que ya se haya tratado a seis pacientes con esa dosis. Si uno de tres pacientes tratados con una dosis experimenta DLT, entonces se trata a otros tres pacientes con el mismo nivel. Si la incidencia de DLT entre aquellos pacientes es uno en seis, entonces se trata a la cohorte siguiente con la dosis superior siguiente. En general, si dos o más de seis pacientes tratados con un nivel de dosis experimentan DLT, después se considera que se ha excedido la MTD, y se trata a otros tres pacientes con la dosis inferior siguiente como se describió anteriormente. La MTD se define como la mayor dosis estudiada para la cual la incidencia de DLT fue menor al 33%. Usualmente el incremento de dosis para los posteriores ciclos en el mismo paciente, es decir, no se permite el incremento de dosis intrapaciente. Alternativamente, los pasos de la dosis pueden definirse mediante una serie Fibonacci modificada en la cual los incrementos de dosis para los niveles sucesivos más allá de la dosis de inicio son 100%, 67%, 50% y 40%, seguidos de 33% para todos los niveles subsiguientes. Finalmente, la MTD puede encontrarse mediante métodos descritos en Simon, R., *et al.*, J. Nat. Cancer Inst. 89 (15), 1997, p. 1138-1147.

La DLT generalmente incluye (pero no se limita a) cualquier muerte relacionada con un fármaco y la mayoría de las toxicidades de grado 3 y 4 relacionadas con un fármaco, incluyendo la neutropenia febril (véase también Criterios de Toxicidad Común Revisados del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos). Ver especialmente los ejemplos. Para un humano, las dosis de tratamiento preferentes se definen mediante la fórmula I, más preferentemente la fórmula II, más preferentemente la fórmula III antes mencionadas (con la condición de que ninguna dosis sea superior a 18 mg/m<sup>2</sup>). Preferentemente, para el tratamiento semanal la dosis es entre aproximadamente 0,1 y 6, preferentemente entre aproximadamente 0,1 y 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,1 y 3 mg/m<sup>2</sup>, incluso más preferentemente entre aproximadamente 0,1 y 1,7 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y 1 mg/m<sup>2</sup>; para el tratamiento de tres semanas (tratamiento cada tercer semana) la dosis es entre aproximadamente 0,3 y 18 mg/m<sup>2</sup>, preferentemente entre aproximadamente 0,3 y 15 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y 12 mg/m<sup>2</sup>, incluso más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y 7,5 mg/m<sup>2</sup>, aún más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 1,0 y 3,0 mg/m<sup>2</sup>. Esta dosis se administra al humano preferentemente mediante administración intravenosa (iv) durante de 2 a 180 minutos, preferentemente de 2 a 120 minutos, preferentemente durante aproximadamente de 5 a 30 minutos, más preferentemente durante aproximadamente de 10 a 30 minutos, por ejemplo durante aproximadamente 30 minutos.

A partir de la utilización de datos de animales, las dosis aplicables en humanos (adultos) puede calcularse aproximadamente del siguiente modo:

Una dosis de 1 mg/kg en un ratón corresponde a una dosis de 3 mg/m<sup>2</sup> en un humano.

Se entiende por suficiente recuperación del tratamiento anterior, en animales de sangre caliente especialmente la recuperación del peso corporal del individuo tratado al nivel de inicio encontrado antes de la primera administración, preferentemente a por lo menos el 95% de dicho peso. En un humano, la recuperación de cada administración de dosis anterior se define preferentemente como la recuperación a partir de cualquier toxicidad grado de 3 ó 4, incluyendo por ejemplo el logro de un recuento de plaquetas de por lo menos 100.000/mm<sup>3</sup> y un recuento de neutrófilos de por lo menos 1.500 células/mm<sup>3</sup> en sangre completa.

El tratamiento se puede repetir si no se logra una respuesta después de un primer tratamiento, hasta que se encuentra una progresión del tumor o hasta que otras razones (por ejemplo la condición del paciente) requieren la interrupción del tratamiento. En un humano, el tratamiento con alrededor del 25 a alrededor del 100% de la MTD se repite preferentemente cada 1 a diez, especialmente 2 a diez semanas; preferentemente cada de 1 a 10 semanas, o cada de 3 a 6 semanas, hasta que se encuentra la progresión de la enfermedad, toxicidad inaceptable, 1 o preferentemente 2 ciclos después de la terminación de una respuesta completa, o la revocación del consentimiento del paciente por cualquier motivo.

Preferentemente, en el caso del tratamiento semanal de un humano con epotilona, la dosis está en el rango de entre aproximadamente el 5 y el 60%, preferentemente entre aproximadamente del 10 al 60%, por ejemplo entre aproximadamente el 5 y el 35% de la MTD, especialmente en el rango de entre aproximadamente el 30 y el 35% de la MTD. Preferentemente, para la epotilona B la dosis está en el rango de entre aproximadamente el 5 y el 60%, más preferentemente entre aproximadamente el 10 y el 60%, especialmente en el rango de entre aproximadamente el 10 y el 45%, más especialmente en el rango de entre aproximadamente el 30 y el 45% de las tres MTD semanales.

Más preferentemente, se interrumpe el tratamiento después de la tercera a la octava, especialmente después de la tercera a la quinta administración semanal seguida de un período de descanso de dos a cinco, por ejemplo dos semanas antes de que se reanude el tratamiento, mediante la administración única o bien de nuevo semanal o de dos

## ES 2 354 193 T3

por semana. Especialmente, en el caso de la epotilona B semanal el tratamiento se detiene después de la tercera a la octava administración seguida por un período de descanso de dos a cuatro, por ejemplo dos semanas antes de que se reanude el tratamiento mediante la administración semanal.

5 La administración del componente (a), es decir las epotilonas B, tiene lugar preferentemente como se describió con anterioridad, especialmente mediante la utilización de uno de los regímenes de tratamiento especial mencionados con anterioridad.

10 La administración del componente (b) preferentemente tiene lugar de acuerdo con los programas de tratamiento que son conocidos para la persona con conocimientos en el arte.

15 En una realización preferente, el componente (b) se administra antes del componente (a), preferentemente en un tratamiento que comprende una o más administraciones del componente (b) antes de comenzar el tratamiento con el componente (a), preferentemente tal tratamiento con el componente (b) finaliza por lo menos dos, preferentemente de 5 a 10, por ejemplo aproximadamente 5, días antes del tratamiento con el componente (a) que se administra una o más veces después, preferentemente de una a cinco, especialmente de una a dos veces.

20 En una realización más preferente, el componente (a) se administra cada 3 semanas antes del componente (b), preferentemente en un tratamiento que comprende una administración del componente (a) antes del comienzo del tratamiento con el componente (b), más preferentemente tal tratamiento con el componente (a) finaliza inmediatamente antes del tratamiento con el componente (b) que se administra después.

25 En una segunda realización más preferente, el componente (a) se administra en base a un programa semanal. El componente (b), por otro lado, se administra cada 3 semanas, donde cada administración se realiza inmediatamente después de la finalización de cada tercera administración del componente (a).

30 En una tercera realización más preferente, el componente (a) se administra en base a un programa semanal antes del componente (b), preferentemente en un tratamiento que comprende una administración del componente (a) antes del comienzo del tratamiento con el componente (b), más preferentemente tal tratamiento con el componente (a) finaliza inmediatamente antes del tratamiento con el componente (b) que se administra después.

35 El término “otro agente quimioterapéutico” se utiliza para hacer referencia especialmente a cualquier agente quimioterapéutico que se utiliza o puede utilizarse en el tratamiento de las enfermedades tumorales, tales como los agentes quimioterapéuticos derivados a partir de las siguientes categorías:

- (A) Agentes alquilantes, preferentemente agentes quimioterapéuticos de entrecruzamiento, preferentemente agentes bis-alquilantes,
- 40 (B) antibióticos antitumorales, preferentemente la doxorubicina (ADRIAMYCIN<sup>®</sup>, RUBEX<sup>®</sup>);
- (C) antimetabolitos;
- (D) alcaloides de las plantas;
- 45 (E) agentes y antagonistas hormonales,
- (F) modificadores de la respuesta biológica, preferentemente linfoquinas o interferones
- (G) inhibidores de la proteína tirosina quinasa y/o serina/treonina quinasa;
- 50 (H) oligonucleótidos de antisentido o derivados de oligonucleótidos; o
- (I) agentes diversos o agentes con otro mecanismo de acción o uno desconocido.

55 Se entiende preferentemente por el término “terapéuticamente efectivo de forma conjunta contra una enfermedad proliferativa que se puede tratar mediante la administración de epotilona B, ”, una enfermedad proliferativa como se mencionó con anterioridad, especialmente una enfermedad tumoral, manifestándose asimismo la respuesta preferentemente en una proliferación reducida, por ejemplo el crecimiento reducido del tumor o incluso (más preferentemente) la regresión del tumor o (más preferentemente) la desaparición del tumor (“respuesta completa”).

60 Preferentemente, el término “cantidad que es terapéuticamente efectiva de forma conjunta contra una enfermedad proliferativa que se puede tratar mediante la administración de epotilona B” significa cualquier cantidad de los componentes (a) y (b) de las combinaciones que, en la combinación, está reduciendo la proliferación de las células responsables de cualquiera de las enfermedades proliferativas mencionadas, especialmente células tumorales (incluyendo las metastásicas) (especialmente el crecimiento reducido del tumor) o, preferentemente, incluso causando la regresión, más preferentemente incluso la desaparición parcial o completa, de dichas células (especialmente la regresión tumoral,

preferentemente la respuesta completa significa la desaparición de el o los tumores). Este término no sólo comprende las combinaciones de cualquier componente (a) y (b) donde (a) y (b) se dosifican de tal modo que son antiproliferativamente efectivos ya sin combinación, pero también dosis de cualquier componente que solo no mostraría ningún efecto o tan sólo un efecto marginal pero que en combinación conduce a efectos claramente antiproliferativos, es decir a una proliferación reducida o preferentemente incluso a una regresión de las células proliferantes o incluso a la cura de la enfermedad proliferativa. Además, aquí el término “combinación” no sólo se utiliza para describir combinaciones fijas de los componentes, sino también cualquier combinación de los componentes (a) y (b) para la utilización simultánea o cronológicamente progresiva dentro de un período de tiempo que es suficientemente pequeño para que los compuestos activos tanto del componente (a) como del componente (b) incrementen mutuamente la actividad antiproliferativa, por ejemplo en un paciente.

Se entiende por el término “preparación combinada que comprende el componente (a) y (b)” cualquier combinación, siendo ésta un conjunto de partes o una combinación única, del componente (a) y (b) en la forma de un producto farmacéutico, que es preferentemente donde está presente un excipiente farmacéuticamente aceptable. Para los excipientes preferentes, véase a continuación bajo “Preparaciones farmacéuticas”.

Se entiende preferentemente por el término “un producto que comprende el componente (a) y el componente (b)”, un producto que comprende (a) por lo menos epotilona B y (b) por lo menos uno de los otros agentes quimioterapéuticos en presencia o ausencia de uno o más materiales excipientes farmacéuticamente aceptables, como una preparación combinada, para su utilización simultánea o cronológicamente progresiva, preferentemente dentro de un período de tiempo que es suficientemente pequeño para que los componentes activos tanto del componente (a) como del componente (b) intensifiquen mutuamente la actividad antiproliferativa contra células proliferativas, especialmente en un paciente, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que responde a tales compuestos activos”, especialmente un “conjunto de partes” en el sentido que los componentes efectivos (a) y (b) de la combinación pueden dosificarse independientemente o mediante la utilización de diferentes combinaciones fijas con cantidades distinguidas de cualquiera de los componentes (a) y (b) en diferentes puntos temporales. Las “partes” del conjunto de partes se pueden entonces administrar de modo simultáneo o cronológicamente progresivo, es decir en diferentes puntos temporales y con igual o diferentes intervalos de tiempo para cualquier parte del conjunto de partes, preferentemente con la condición de que se elijan los intervalos de tiempo de modo que el efecto sobre la enfermedad proliferativa en la utilización combinada de las partes sea mayor que el efecto que se obtendría mediante la utilización de sólo uno de cualquiera de los componentes (a) y (b) por separado o mediante la utilización de ambos de un modo en el cual los compuestos actúen independientemente (por ejemplo con períodos suficientemente largos para evitar los efectos de cada uno de los componentes sobre los otros), es decir, existe una inhibición más fuerte de la proliferación o, preferentemente, una regresión más fuerte o incluso la cura de la enfermedad proliferativa que cuando la misma dosis de sólo uno de los componentes (a) y (b) se administra por separado con la misma dosis o tras intervalos de tiempo suficientemente largos de modo que se excluyan los efectos recíprocos de los componentes (a) y (b). Eso es lo que se entiende por el término “intensificar mutuamente la actividad antiproliferativa contra las células proliferantes, especialmente en un paciente”; preferentemente se entiende una intensificación recíproca del efecto de los componentes (a) y (b), especialmente una sinergia y/o la obtención de una regresión de las células proliferantes, hasta e incluyendo su destrucción completa, y especialmente una fuerte sinergia entre los componentes (a) y (b).

Se entiende por el término “células proliferantes”, especialmente células patológica o anormalmente proliferantes, tales como un tumor y/o células tumorales metastásicas, especialmente tumores según se definió con anterioridad en este documento como preferente.

Se prefieren las combinaciones que muestran actividad antiproliferativa intensificada en comparación con los componentes únicos solos, especialmente las combinaciones que muestran sinergia (combinaciones sinérgicas) o combinaciones que conducen a una regresión de los tejidos proliferantes y/o la cura de las enfermedades proliferativas.

El término “sinergia” hace referencia a un efecto que es más fuerte que aditivo, es decir, un efecto más fuerte producto de la combinación de cualquier componente (a) con cualquier componente (b) de lo que se podría alcanzar mediante el factor de disminución de la proliferación obtenido a partir de la mera multiplicación del factor de disminución de proliferación para cualquier componente (a) por separado o cualquier componente (b) por separado en comparación con un control sin tratamiento cuando cada uno (a) y (b) como tales, ya sea solos o en combinación, se administran con la misma dosis que en el tratamiento único sin combinación (lo que no significa que la dosis de (a) debe ser idéntica a la de (b), aunque este también podría ser el caso. Como un ejemplo teórico a título meramente ilustrativo, si un componente (a) solo da un crecimiento de células tumorales que se disminuye mediante un factor de 2 en comparación con un control sin ningún tratamiento y un componente (b) solo da una disminución de crecimiento mediante un factor de 1,5, entonces un efecto aditivo sería uno en donde se encontraría una disminución triplicada del crecimiento (multiplicación de 2 con 1,5), mediante la utilización combinado del componente (a) y el componente (b). Un efecto sinérgico estaría presente por ejemplo si se descubre una disminución mayor al triple de la proliferación. La presencia de sinergia puede mostrarse mediante este método de los productos fraccionados [Webb, en: “Enzymes and Metabolic Inhibitors”, Vol. 1, 66-73 and 488-512, Academic Press, New York] o alternativamente mediante el método de los isobogramas [ver referencias en: Berenbaum *Pharmacol. Rev.* 41, 99-141 (1984)], y/o el método de cálculo de índice de combinación (CI) [Chou *et al.*, *Trends Pharmacol. Sci.* 4, 450-454 (1983); o Chou *et al.*, *New Avenues in Developmental Cancer Chemotherapy*; Bristol-Myers Symposium Series, K.R. Harrap and I.A. Connors (eds.), 37-64, New York, Academic Press (1987)].

## ES 2 354 193 T3

A continuación se explica en la definición de preparaciones farmacéuticas el término “materiales excipientes farmacéuticamente aceptables”.

5 El componente (b) (otro(s) agente(s) quimioterapéutico(s)) también puede estar presente en forma de sales siempre que se menciona anteriormente o posteriormente, siempre y cuando en la molécula respectiva estén presentes los grupos que forman sales.

10 La terminación del tratamiento tiene lugar preferentemente cuando ocurre uno de los siguientes: Progresión de la enfermedad, por ejemplo de acuerdo con los criterios de respuesta del Southwest Oncology Group (SWOG); toxicidad inaceptable (por ejemplo en el paciente, el investigador, o en ambos); tratamiento de 2 ciclos más allá de la terminación de una respuesta completa, por ejemplo de acuerdo con los criterios de respuesta del Southwest Oncology Group (SWOG); o la revocación del consentimiento del paciente.

15 Las sales de los componentes son especialmente sales de adición de ácidos, sales con bases o, cuando están presentes varios grupos formadores de sales, opcionalmente también sales mixtas o sales internas. Las sales son especialmente las sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo sales sustancialmente no tóxicas.

20 Tales sales se forman, por ejemplo, a partir de agentes quimioterapéuticos que tienen un grupo ácido, por ejemplo un grupo carboxilo, fosfodiéster o fosforotioato, y están, por ejemplo, sus sales con bases adecuadas, tales como las sales metálicas no tóxicas derivadas a partir de metales de los grupos Ia, Ib, Iia y Iib de la Tabla Periódica de los Elementos, especialmente las sales metálicas alcalinas adecuadas, por ejemplo sales de litio, sodio, o potasio o sales de amonio, también aquellas sales que se forman con aminos orgánicos, tales como mono-, di- o tri-alquilaminas substituidas por hidróxido o no substituidas, especialmente mono-, di- o tri-alquilaminas inferiores, o con compuestos de amonio cuaternario, por ejemplo N-metil-N-etilamina, dietilamina, trietilamina, mono-, bis- o tris-(2-hidroxi-inferior alquil)aminas, tales como mono-, bis- o tris-(2-hidroxi-etil)amina, 2-hidroxitert-butilamina o tris(hidroxi-metil)metilamina, N,N-di-inferior alquil-N-(hidroxi-inferior alquil)-aminas, tales como N,N-dimetil-N-(2-hidroxi-etil)-amina o tri-(2-hidroxi-etil)-amina, o N-metil-D-glucamina, o sales de amonio cuaternario, tales como las sales de tetrabutylamonio. El agente quimioterapéutico que tiene un grupo básico, por ejemplo un grupo amino o imino, puede formar sales de adición de ácidos, por ejemplo con ácidos inorgánicos, por ejemplo un ácido hidrohálico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico, o con ácidos carboxílicos orgánicos, sinfónicos, sulfo o fosfo ácidos o ácidos sulfámicos N-substituidos tales como, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido fumárico, ácido málico, ácido tartárico, ácido glucónico, ácido cítrico, o ácido benzoico, también con aminoácidos, por ejemplo,  $\alpha$ -aminoácidos, y también con ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxi-tan-sulfónico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido benzenosulfónico, ácido 4-metil-benzenosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido N-ciclohexilsulfámico (con la formación de los ciclamatos) o con otros compuestos orgánicos acídicos, tales como el ácido ascórbico. Los compuestos que tienen grupos acídicos y básicos pueden también formar sales internas. Si más de un grupo formador de sales está presente, es posible que las sales mixtas estén presentes también.

40 Cuando se utilizan los términos numéricos en la presente, con anterioridad y a continuación, tienen por objeto incluir los números que representan los límites superiores e inferiores. Por ejemplo, “entre 1 y 3” representa un rango “a partir del 1 inclusive y hasta el 3 inclusive 3”, y “en el rango de 1 a 3” representaría “a partir del 1 inclusive y hasta el 3 inclusive 3”. Lo mismo es válido si en lugar de números (por ejemplo 3) se utilizan palabras que denotan números (por ejemplo “tres”).

45 Donde se utiliza “que comprende”, esto puede reemplazarse preferentemente por “que consiste esencialmente en”, más preferentemente por “que consiste en”.

50 Donde se utiliza “aproximadamente” con referencia a un número, esto significa preferentemente el número  $\pm 15\%$ , más preferentemente el número más  $5\%$ , más preferentemente el mismo número sin “aproximadamente”. Por ejemplo, “aproximadamente 100” significaría “a partir de 85 inclusive hasta 115 inclusive”. Donde se usa “aproximadamente” con referencia a rangos numéricos, por ejemplo “de aproximadamente 1 a aproximadamente 3”, o “entre aproximadamente uno y aproximadamente tres”, la definición de “aproximadamente” con referencia a un número en la última oración se aplica preferentemente a cada número que define el comienzo y el final de un rango de manera separada. Preferentemente, donde se utiliza “aproximadamente” con referencia a cualquier valor numérico, el “aproximadamente” puede borrarse.

60 “Semanal” hace referencia a “aproximadamente una vez por semana” (lo cual significa que se hace más de un tratamiento con un intervalo de aproximadamente una semana entre tratamientos), “aproximadamente” en este caso significa preferentemente  $\pm 1$  día (es decir, “cada de 6 a 8 días”); más preferentemente, “semanal” hace referencia a “una vez cada 7 días”.

65 “Cada 3 semanas” o “cada tres semanas” hace referencia a “aproximadamente una vez cada tres semanas” (lo cual significa que se hace más de un tratamiento con un intervalo de aproximadamente tres semanas entre tratamientos), el “aproximadamente” significa en este caso preferentemente  $\pm 3$  días (es decir, cada de 18 a 24 días); más preferentemente, “semanas” hace referencia a “una vez cada 21 días” (= cada tercer semana).

## ES 2 354 193 T3

En las siguientes realizaciones preferentes de la invención, las definiciones generales pueden reemplazarse por las definiciones más específicas proporcionadas con anterioridad o con posterioridad en este documento, según corresponda.

- 5 (1) La presente invención hace referencia especialmente al tratamiento de una enfermedad proliferativa, especialmente un cáncer, especialmente un cáncer que es refractario al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos y/o un miembro de la clase taxano de los agentes anticancerosos, especialmente TAXOL<sup>®</sup>, más especialmente una de las enfermedades preferentes como se definió con anterioridad o con posterioridad, *caracterizado porque* la epotilona B, se administra más de una vez con un intervalo de una a tres semanas a un humano en una dosis que se calcula de acuerdo con la fórmula (I)

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } y) \times N \quad \text{(I)}$$

- 15 donde N (un número entero o fracción) es el número de semanas entre tratamientos (de aproximadamente una a aproximadamente tres semanas), es decir N es de aproximadamente 1 a aproximadamente 3; más preferentemente, la dosis de tratamiento se calcula de acuerdo con la fórmula II

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 2,5) \times N; \quad \text{(II);}$$

aún más preferentemente de acuerdo con la fórmula III,

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 1,7) \times N; \quad \text{(III);}$$

o aún más preferentemente de acuerdo con la fórmula IV

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 1) \times N \quad \text{(IV)}$$

- 35 donde, en cada una de las fórmulas de la II a la IV, N es de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 (lo cual corresponde a los intervalos de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 semanas entre tratamientos);

epotilona B, efectuándose la administración preferentemente

- 40 (a) semanalmente en un humano en una dosis entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 6, preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 3 mg/m<sup>2</sup>, aún más preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 1,7 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 1 mg/m<sup>2</sup>; o
- 45 (b) cada tres semanas en un humano en una dosis entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 18 mg/m<sup>2</sup>, preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 15 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 12 mg/m<sup>2</sup>, incluso más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 7,5 mg/m<sup>2</sup>, aún más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 1,0 y aproximadamente 3,0 mg/m<sup>2</sup>; ejecutándose la administración preferentemente mediante una infusión intravenosa durante de 2 a 120 minutos, más preferentemente durante de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 minutos, más preferentemente durante de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 minutos, por ejemplo durante aproximadamente 30 minutos.

- 55 (2) Esta aplicación describe el tratamiento de una enfermedad tumoral que es refractaria al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos, especialmente seleccionados entre 5-fluorouracilo y preferentemente un agente estabilizante de microtúbulos de la clase del taxano, más especialmente TAXOL<sup>®</sup>, siendo dicho tumor seleccionado entre un tumor gastrointestinal, por ejemplo colorectal; un tumor renal; un tumor genitourinario, por ejemplo prostático; un tumor pancreático; y un tumor cerebral (y/o cualquier metástasis de los mismos), más preferentemente un tumor gastrointestinal, especialmente un cáncer colorectal, más especialmente un cáncer gastrointestinal, especialmente un
- 60 cáncer colorectal, es decir refractario al tratamiento con un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos, especialmente TAXOL<sup>®</sup>, o muy especialmente tal tumor que es refractario a una quimioterapia estándar, tales como un tratamiento quimioterapéutico estándar, especialmente con 5-fluorouracilo; o un tumor del tracto genitourinario, especialmente un cáncer de próstata, más especialmente un cáncer de próstata refractario a hormonas; donde la epotilona B se administra a un animal de sangre caliente, especialmente un humano.

- 65 (3) Esta aplicación describe el tratamiento de una enfermedad tumoral, especialmente un tumor de pulmón, especialmente un carcinoma de pulmón de células no pequeñas, especialmente tal cáncer de pulmón que es refractario al tratamiento con un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos, especialmente TAXOL<sup>®</sup>; un tu-

## ES 2 354 193 T3

mor de mama, especialmente uno que es resistente a múltiples fármacos; o un tumor epidermoide, preferentemente un tumor epidermoide de cabeza y cuello, especialmente de boca, especialmente si este último es resistente a múltiples fármacos y/o resistente al tratamiento con un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos, en particular TAXOL<sup>®</sup>; donde la epotilona B, se administra a un animal de sangre caliente, especialmente un humano.

5 (4) Esta aplicación describe un régimen *in vivo* para el tratamiento de una enfermedad tumoral, especialmente (i) de un tumor del tracto gastrointestinal, más especialmente un tumor de colon y/o recto (tumor colorectal); y/o (ii) un tumor del tracto genitourinario, especialmente un tumor de próstata (preferentemente un tumor de próstata refractario a hormonas); especialmente donde tal tumor es refractario al tratamiento con otro agente quimioterapéutico, especialmente uno de la clase del taxano, más especialmente TAXOL<sup>®</sup>; donde la epotilona B se administra una vez en 10 una dosis entre aproximadamente 20 y aproximadamente 100% de la MTD, a un humano; y, si se requiere, uno o más (preferentemente de dos a siete) dosis adicionales cada una dentro del rango de dosis mencionado anteriormente para la primera dosis se administra en ciclos adicionales de tratamiento, preferentemente cada dosis después de un período de tiempo que permite la suficiente recuperación del individuo bajo tratamiento de cada administración de dosis anterior, 15 especialmente más de dos semanas después del tratamiento anterior, más especialmente de dos a 10 semanas, más especialmente de tres a seis semanas después del tratamiento anterior, especialmente tres semanas después de ese tratamiento.

Más preferentemente, bajo (1) al (4) la epotilona B se administra semanalmente a un humano con una dosis entre 20 aproximadamente 0,1 y aproximadamente 6, preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 3 mg/m<sup>2</sup>, incluso más preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 1,7 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 1 mg/m<sup>2</sup>; o la epotilona B se administra cada tres semanas (cada 3 semanas) en una dosis entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 18 mg/m<sup>2</sup>, preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 15 25 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 12 mg/m<sup>2</sup>, incluso más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 7,5 mg/m<sup>2</sup>, aún más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 1,0 y aproximadamente 3,0 mg/m<sup>2</sup>. Esta dosis preferentemente se administra al humano mediante administración intravenosa (iv) durante de 2 a 120 minutos, más preferentemente durante de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 minutos, más preferentemente durante de 30 aproximadamente 10 a aproximadamente 30 minutos, por ejemplo durante aproximadamente 30 minutos.

Más preferentemente, dicho tratamiento se repite cada de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 semanas, hasta la progresión de la enfermedad, toxicidad inaceptable, 1 o preferentemente 2 ciclos más allá de la determinación de una respuesta completa, o hasta la revocación del consentimiento del paciente por cualquier motivo.

35 (5) Esta aplicación describe un régimen *in vivo* para el tratamiento de una enfermedad tumoral, especialmente (i) de un tumor del tracto gastrointestinal, más especialmente un tumor de colon y/o recto (tumor colorectal); y/o (ii) un tumor del tracto genitourinario, especialmente un tumor de próstata; especialmente donde tal tumor es refractario al tratamiento con otro agente quimioterapéutico, especialmente uno de la clase del taxano, más especialmente TAXOL<sup>®</sup> 40 (preferentemente un tumor de próstata refractario a hormonas); donde la epotilona B se administra semanalmente a un animal de sangre caliente en una dosis que está por debajo del 80%, más preferentemente por debajo del 50% de las dosis máxima tolerada (MTD).

Preferentemente, en el caso del tratamiento semanal de un humano con dicha(s) epotilona(s), la dosis se encuentra 45 en el rango de aproximadamente 1 a aproximadamente 60%, preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 60%, por ejemplo de aproximadamente 5 a aproximadamente 35% de la MTD, por ejemplo en el rango de aproximadamente 30 a aproximadamente 35% de la MTD. Preferentemente, para la epotilona B la dosis se encuentra en el rango de aproximadamente 5 a aproximadamente 60%, preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 60%, especialmente en el rango de aproximadamente 10 a aproximadamente 45%, más especialmente en el 50 rango de aproximadamente 30 a aproximadamente 45% de la MTD cada tres semanas. En un caso especial, la dosis puede estar entre aproximadamente 2 y aproximadamente 18 mg/m<sup>2</sup> para la epotilona B.

Más preferentemente, el tratamiento se detiene después de la tercera a la octava, especialmente después de la tercera a la quinta administración semanal seguida de un período de descanso de dos a cinco, por ejemplo dos semanas 55 antes de que se reanude el tratamiento adicional. Preferentemente y si se requiere, en el caso del tratamiento de administración semanal de la epotilona B se detiene después de la tercera a la octava administración seguida por un período de descanso de dos a cuatro, por ejemplo dos semanas antes de que se reanude el tratamiento mediante la administración semanal.

60 (6) La aplicación describe el tratamiento *in vivo* de una enfermedad tumoral mediante administración combinada (a) de epotilona B, en combinación con (b) otro agente quimioterapéutico seleccionado entre el grupo que consiste en

(A) agentes alquilantes, preferentemente agentes quimioterapéuticos de entrecruzamiento, preferentemente 65 agentes bis-alquilantes,

(B) antibióticos antitumorales, preferentemente la doxorubicina (ADRIAMYCIN<sup>®</sup>, RUBEX<sup>®</sup>);

## ES 2 354 193 T3

- (C) antimetabolitos;
- (D) alcaloides de las plantas;
- 5 (E) agentes y antagonistas hormonales,
- (F) modificadores de la respuesta biológica, preferentemente linfocinas o interferones
- (G) inhibidores de la proteína tirosina quinasa y/o serina/treonina quinasas;
- 10 (H) oligonucleótidos de antisentido o derivados de oligonucleótidos; o
- (I) agentes diversos o agentes con otro mecanismo de acción o uno desconocido;

15 siendo el tratamiento combinado previsto de modo que el componente (a) y (b) se combinan para la utilización simultánea o cronológicamente progresiva dentro de un período de tiempo que es suficientemente pequeño para que los compuestos activos tanto del componente (a) como del componente (b) intensifiquen mutuamente la actividad antiproliferativa, por ejemplo en un paciente.

20 (7) Esta aplicación describe un producto que comprende un componente (a) y un componente (b) como se definió con anterioridad en (6), en la presencia o ausencia de uno o más materiales excipientes farmacéuticamente aceptables, como una preparación combinada para la administración simultánea o cronológicamente progresiva a un humano dentro de un período de tiempo que es suficientemente pequeño para que los compuestos activos de tanto del componente (a) como del componente (b) intensifiquen mutuamente la actividad contra una enfermedad tumoral, especialmente

25 (i) un tumor del tracto gastrointestinal, más especialmente un tumor de colon y/o recto (tumor colorectal); y/o (ii) un tumor del tracto genitourinario, especialmente un tumor de próstata; especialmente donde tal tumor es refractario al tratamiento con otro agente quimioterapéutico, especialmente uno de la clase del taxano, más especialmente TAXOL®; para el tratamiento de dicha enfermedad tumoral.

30 De (1) a (7) o las realizaciones subsiguientes de la invención, la administración de la epotilona B, se efectúa preferentemente mediante infusión, especialmente mediante infusión intravenosa.

Las siguientes son algunas realizaciones especialmente preferentes de la invención:

- 35 A1. La utilización de la epotilona B, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que es refractaria al tratamiento con otro agente quimioterapéutico; o la utilización de la epotilona B, para la elaboración de una preparación farmacéutica para el tratamiento de la enfermedad proliferativa que es refractaria al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos.
- 40 A2. La utilización de acuerdo con A1 donde la enfermedad proliferativa es una enfermedad tumoral que es refractaria a un agente estabilizante de microtúbulos de la clase del taxano, especialmente TAXOL®.
- A3. La utilización de acuerdo con cualquiera de A1 a A2 donde la enfermedad proliferativa es un tumor colorectal, y/o una metástasis de éste.
- 45 A4. La utilización de acuerdo con cualquiera de A1 a A2 donde la enfermedad proliferativa es un tumor prostático, y/o una metástasis del mismo; especialmente un tumor prostático refractario a hormona.
- B1. La utilización de la epotilona B para la elaboración de una preparación farmacéutica que es apropiada para la administración de dicha epotilona una vez en una dosis que está entre aproximadamente 1 y aproximadamente 100% de la dosis máxima tolerada (MTD) en un animal de sangre caliente, a dicho animal de sangre caliente para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que es refractaria al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos.
- 50 B2. La utilización de acuerdo con B1 donde la epotilona es epotilona B.
- B3. La utilización de acuerdo con cualquiera de B1 y B2 donde la dosis está entre 25 y 100% de la dosis máxima tolerada y el animal de sangre caliente es un humano.
- 55 B4. La utilización de acuerdo con cualquiera de B1 a B3 donde la unidad de dosis para un humano adulto se encuentra en el rango de entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 18, preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 12, más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 7,5, más preferentemente entre aproximadamente 1,0 y aproximadamente 3 mg/m<sup>2</sup> de la epotilona B con el tratamiento cada tres semanas; o entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 6, preferentemente aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5, más preferentemente aproximadamente 0,1 y aproximadamente 3,
- 60 más preferentemente aproximadamente 0,3 y aproximadamente 1 mg/m<sup>2</sup> para el tratamiento semanal.
- 65

## ES 2 354 193 T3

- B5. La utilización de acuerdo con cualquiera de B1 a B4 donde la dosis se elige de modo tal que después de un período de tiempo que permite la suficiente recuperación del individuo tratado de cada dosis anterior se puede administrar una dosis adicional.
- 5 B6. La utilización de acuerdo con cualquiera de la B1 a la B5 donde la enfermedad proliferativa es un tumor.
- B7. La utilización de acuerdo con cualquiera de B1 a B2 donde la enfermedad proliferativa es un tumor colorectal, y/o una metástasis de éste.
- 10 B8. La utilización de acuerdo con cualquiera de B1 a B6 donde la enfermedad proliferativa es un tumor de próstata, y/o una metástasis de éste.
- B9. La utilización de acuerdo con cualquiera de B1 a B8 donde el tumor es uno que es refractario al tratamiento con un agente estabilizante de microtúbulos de la clase del taxano, especialmente TAXOL<sup>®</sup>.
- 15 C1. La utilización de la epotilona B, para la elaboración de una preparación farmacéutica que es apropiada para la administración de dicha epotilona una vez a la semana, donde la dosis es 80% o menos, preferentemente 50% o menos, de la MTD.
- 20 D1. La utilización de la epotilona B, para la elaboración de una preparación farmacéutica que es apropiada para la administración combinada (a) de una epotilona, preferentemente epotilona A y/o epotilona B, en combinación con (b) otro agente quimioterapéutico antitumoral a un animal de sangre caliente que padece una enfermedad proliferativa que es refractaria al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos, especialmente un tumor colorectal o de próstata y/o una metástasis de éste.
- 25 E1. Una preparación farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, especialmente una enfermedad tumoral, especialmente una de aquellas caracterizadas como preferentes con anterioridad o posterioridad, en un humano, dicha preparación que comprende una epotilona, especialmente epotilona B, en una dosis que se encuentra en el rango de 1 a 100%, preferentemente de 25 a 100% de la dosis máxima tolerada (MTD), y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 30 F1. Una preparación combinada que comprende (a) epotilona A o preferentemente epotilona B y (b) uno o más agentes quimioterapéuticos antitumorales, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 35 G1. Un producto que comprende como componente (a) epotilona A y/o B, preferentemente epotilona B, y como componente (b) cualquier otro agente quimioterapéutico antitumoral, en la presencia o ausencia de uno o más materiales excipientes farmacéuticamente aceptables, como una preparación combinada para la administración simultáneamente o cronológicamente progresiva a un animal de sangre caliente, especialmente un humano, dentro de un período de tiempo que es suficientemente pequeño para que los compuestos activos tanto del componente (a) como del componente (b) incrementen mutuamente la actividad antitumoral en dicho animal de sangre caliente, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa.
- 40

Esta aplicación describe el tratamiento de los siguientes tipos de tumores/cáncer con epotilona B:

- 45 (i) un tumor gastrointestinal, especialmente un tumor colorectal que es refractario a un representante de la clase del taxano de los agentes anticancerosos, en particular TAXOL<sup>®</sup>; o más especialmente al tratamiento con quimioterapia estándar, especialmente con 5-fluorouracilo, y/o TAXOL<sup>®</sup>.
- 50 (ii) un tumor del tracto genitourinario, especialmente un tumor de próstata, incluyendo los tumores primarios y especialmente metastásicos; más especialmente si son refractarios al tratamiento hormonal;
- (iii) un tumor epidermoide, más especialmente un epidermoide de cabeza y cuello, más especialmente un epidermoide de boca, especialmente uno de estos que son refractarios al tratamiento con otro agente quimioterapéutico, especialmente debido a la resistencia a múltiples fármacos, especialmente al tratamiento con un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos, especialmente TAXOL<sup>®</sup>;
- 55 (iv) un tumor de pulmón, especialmente un cáncer de pulmón de células no pequeñas, que es refractario al tratamiento con otro agente quimioterapéutico, especialmente debido a (principalmente) la resistencia a múltiples fármacos, especialmente al tratamiento con un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos, especialmente TAXOL<sup>®</sup>; y/o
- 60 (v) un tumor de mama, especialmente un tumor de mama que es resistente a múltiples fármacos, más especialmente uno que es refractario al tratamiento con un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos, especialmente TAXOL<sup>®</sup>.
- 65

## ES 2 354 193 T3

Preferentemente, la invención hace referencia al tratamiento de cualquiera de los tipos (i) al (v) de tumores mencionados anteriormente, más preferentemente a los del (I), (ii), (iv) y (v).

Más preferentemente, la invención hace referencia al tratamiento de cualquiera de los tipos de tumores antes mencionados bajo de (i) a (v), especialmente a cualquiera de ellos, mediante el tratamiento con una infusión intravenosa de epotilona B durante de 2 a 120 minutos, preferentemente durante de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 minutos, más preferentemente durante de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 minutos, más preferentemente durante aproximadamente 30 minutos; siendo dicha administración repetida cada de una a tres semanas, preferentemente cada una semana (semanalmente) o cada tres semanas; donde la dosis de epotilona B se define preferentemente mediante la fórmula I,

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } y) \times N \quad \text{(I)}$$

donde N (un número entero o fracción) es el número de semanas entre tratamientos que se encuentra entre aproximadamente una a aproximadamente tres semanas, es decir, N es de aproximadamente 1 a aproximadamente 3; e y es 6, preferentemente 5, más preferentemente 4.

Más preferentemente, la dosis del tratamiento se calcula de acuerdo con la fórmula II

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 2,5) \times N; \quad \text{(II);}$$

incluso más preferentemente de acuerdo con la fórmula III,

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 1,7) \times N; \quad \text{(III);}$$

o más preferentemente de acuerdo con la fórmula IV

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 1) \times N \quad \text{(IV)}$$

donde, en cada una de las fórmulas de la II a la IV, N corresponde a entre aproximadamente 1 y aproximadamente 3 (lo cual significa preferentemente desde un tratamiento semanal hasta un tratamiento cada tres semanas).

Más preferentemente, para el tratamiento semanal la dosis está entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 6, preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 3 mg/m<sup>2</sup>, incluso más preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 1,7 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 1 mg/m<sup>2</sup>; o para el tratamiento cada tres semanas entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 18 mg/m<sup>2</sup>, preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 15 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 12 mg/m<sup>2</sup>, incluso más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 7,5 mg/m<sup>2</sup>, aún más preferentemente entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 5 mg/m<sup>2</sup>, más preferentemente entre aproximadamente 1,0 y aproximadamente 3,0 mg/m<sup>2</sup>.

Más preferentemente, pueden ser necesarios períodos de descanso de más de una semana, más preferentemente de dos a diez semanas, más preferentemente de tres a seis semanas después del tratamiento anterior (especialmente en el caso del tratamiento semanal) después de por ejemplo 3, 4, 6, 8, o más ciclos, dependiendo de la condición del paciente, para permitir la suficiente recuperación del tratamiento anterior.

Son también especialmente preferentes las condiciones y formulaciones de tratamiento semejantes a aquellas mencionadas en los Ejemplos.

### 60 *Formulaciones Farmacéuticas*

Esta aplicación describe la utilización de la epotilona B, para la elaboración de una formulación farmacéutica para la utilización contra una enfermedad tumoral como se definió con anterioridad; o para una formulación farmacéutica para el tratamiento de dicha enfermedad tumoral que comprende epotilona B, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

## ES 2 354 193 T3

Esta aplicación describe las composiciones farmacéuticas que comprenden epotilona B, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, especialmente una enfermedad tumoral definida como preferente con anterioridad, y a la preparación de preparaciones farmacéuticas para dicho tratamiento.

5 La epotilona B puede utilizarse, por ejemplo, para la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad efectiva de ingredientes activos junto con o en mezcla con una cantidad significativa de excipientes inorgánicos u orgánicos, sólidos o líquidos, farmacéuticamente aceptables.

10 Esta aplicación describe una composición farmacéutica que es adecuada para la administración a un animal de sangre caliente, especialmente un humano, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa como se definió con anterioridad en este documento, que comprende epotilona B, que es efectiva para el tratamiento de dicha enfermedad proliferativa, junto con por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención son aquellas para la administración enteral, tales como nasal, rectal u oral, o preferentemente parenteral, tales como intramuscular o intravenosa a un animal de sangre caliente (humano o animal), que comprende una dosis efectiva del ingrediente farmacológicamente activo, solo o junto con una cantidad significativa de excipiente farmacéuticamente aceptable. La dosis del ingrediente activo depende de la especie de animal de sangre caliente, el peso corporal, la edad y la condición individual, los datos farmacocinéticos individuales, la enfermedad que va a ser tratada y el modo de administración; preferentemente, la dosis es una de 20 las dosis preferentes como se definió con anterioridad, que se modifica apropiadamente si se trata de un tratamiento pediátrico.

25 Las composiciones farmacéuticas comprenden desde aproximadamente 0,00002 hasta aproximadamente 95%, especialmente (por ejemplo en el caso de las diluciones de infusión que están listas para ser usadas) de 0,0001 a 0,02% o (por ejemplo en el caso de concentrados de infusión) desde aproximadamente 0,1% a aproximadamente 95%, preferentemente desde aproximadamente 20% a aproximadamente 90%, de ingrediente activo (peso/peso, en cada caso). Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden ser, por ejemplo, en forma de unidad de dosis, tales como en forma de ampollas, viales, supositorios, grageas, pastillas o cápsulas.

30 Preferentemente, la dosis se elige de modo que permite el régimen de tratamiento en base a la MTD mencionada anteriormente para el tratamiento único o raro de una enfermedad tumoral.

35 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se preparan de un modo que se conoce *per se*, por ejemplo por medio de procesos convencionales de disolución, liofilización, mezcla, granulación o confección.

40 Las soluciones del ingrediente activo, y también las suspensiones, y especialmente las soluciones o suspensiones acuosas isotónicas, se utilizan preferentemente, siendo esto posible, por ejemplo en el caso de composiciones liofilizadas que comprenden el ingrediente activo solo o junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo manitol, para que se produzcan tales soluciones o suspensiones antes de ser usadas. Las composiciones farmacéuticas pueden ser esterilizadas y/o pueden comprender excipientes, por ejemplo agentes conservantes, estabilizadores, humectantes y/o emulsionantes, solubilizantes, sales para la regulación de la presión osmótica y/o tampones, y se preparan de un modo conocido *per se*, por ejemplo por medio de procesos convencionales de disolución o liofilización. Las dichas soluciones o suspensiones pueden comprender sustancias que incrementan la viscosidad, tales como 45 carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa, dextran, polivinilpirrolidona o gelatina.

50 Las suspensiones en aceite comprenden como el componente de aceite los aceites vegetales, sintéticos o semi-sintéticos habituales para los propósitos de inyección. Se puede mencionar como tales especialmente los ésteres líquidos ácidos grasos que contienen como el componente ácido un ácido graso de cadena larga que tiene de 8 a 22, especialmente de 12 a 22, átomos de carbono, por ejemplo ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirístico, ácido penta-decílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido behénico o los ácidos no saturados correspondientes, por ejemplo ácido oleico, ácido elaídico, ácido erúxico, ácido brasídico o ácido linoleico, si se desea con la adición de antioxidantes, por ejemplo vitamina E,  $\beta$ -caroteno o 3,5-di-tert-butil-4-hidroxitolueno. El compuesto de alcohol de esos ésteres ácidos grasos tiene un máximo de 6 átomos de carbono y es un mono- o poli-hidroxi, por 55 ejemplo un mono-, di- o tri-hidroxi, alcohol, por ejemplo metanol, etanol, propanol, butanol o pentanol o sus isómeros, pero especialmente glicol y glicerol. Por lo tanto, debe mencionarse los siguientes ejemplos de ésteres ácidos grasos: etil oleato, isopropil miristato, isopropil palmitato, "Labrafil M 2375" (trioleato de polioxietileno glicerol, Gattefossé, Paris), "Miglyol 812" (triglicérido de ácidos grasos saturados con un largo de cadena de C<sub>8</sub> a C<sub>12</sub>, Hüls AG, Alemania), pero especialmente aceites vegetales, tales como el aceite de semilla de algodón, aceite de almendra, aceite de oliva, 60 aceite de castor, aceite de sésamo, aceite de soja y más especialmente aceite de cacahuete.

65 Las composiciones de inyección o infusión se preparan del modo habitual bajo condiciones de esterilidad; lo mismo aplica también para la introducción de las composiciones dentro de las ampollas o ampolletas y el sellado de contenedores.

Se prefiere una formulación de infusión que comprende epotilona B, y un disolvente orgánico farmacéuticamente aceptable.

## ES 2 354 193 T3

La formulación no requiere la utilización de un surfactante. Los surfactantes tales como Cremophor pueden causar reacciones alérgicas y pueden también filtrar plastificantes de los contenedores de PVC estándar, tubos y similares. En consecuencia, cuando éstos son empleados se requiere la utilización de aparatos de infusión especiales, por ejemplo tubos de nitro-glicerina y contenedores no plastificados, tales como los tubos de vidrio y similares.

El disolvente farmacéuticamente aceptable utilizado en una formulación de acuerdo con la invención se puede elegir entre cualquiera de tales disolventes orgánicos conocidos en el arte. Preferentemente el disolvente se selecciona entre alcohol, por ejemplo etanol absoluto o mezclas de etanol/agua, más preferentemente 70% etanol, glicol de polietileno 300, glicol de polietileno 400, glicol de polipropileno o N-metilpirrolidona, más preferentemente glicol de polipropileno o 70% etanol o especialmente glicol de polietileno 300.

La Epotilona B puede estar preferentemente presente en la formulación en una concentración de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/ml, más preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg/ml, aún más preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg/ml (especialmente en concentrados de infusión).

La epotilona B se puede usar como sustancia pura, se prefiere el empleo de una concentración de Epotilona A de 5 a 100 mg/ml, preferentemente 10 a cuando la Epotilona B se usa en su forma pura se emplea preferentemente en una concentración de 0,1 a 10, más preferentemente de 1 a 10, aún más preferentemente de 1 a 2 mg/ml (este número hace referencia especialmente a un concentrado de infusión que, antes del tratamiento, se diluye de manera correspondiente, véase más abajo).

Tales formulaciones son almacenadas de manera conveniente en ampollas o ampolletas. Habitualmente las ampollas o ampolletas se hacen de vidrio, por ejemplo vidrio de borosilicato o de sosa y cal. Las ampollas o ampolletas pueden ser de cualquier volumen convencional en el arte, preferentemente son de un tamaño suficientemente grande para contener de 0,5 a 5 ml de formulación. La formulación es estable para períodos de almacenamiento de hasta 12 a 24 meses a temperaturas de por lo menos 2 a 8°C.

Las formulaciones deben estar diluidas en un medio acuoso adecuado para la administración intravenosa antes de que la epotilona pueda administrarse a un paciente.

La solución de infusión debe tener preferentemente la misma o esencialmente la misma presión osmótica que el fluido corporal. Por lo tanto, el medio acuoso contiene preferentemente un agente isotónico que tiene el efecto de hacer que la presión osmótica de la solución de infusión sea la misma o esencialmente la misma que la del fluido corporal.

El agente isotónico puede seleccionarse entre cualquiera de aquellos conocidos en el arte, por ejemplo manitol, dextrosa, glucosa y cloruro de sodio. Preferentemente el agente isotónico es glucosa o cloruro de sodio. Los agentes isotónicos pueden utilizarse en cantidades que otorgan la misma o esencialmente la misma presión osmótica del fluido corporal a la solución de infusión. Las cantidades precisas necesarias pueden determinarse mediante la experimentación de rutina y dependerán de la composición de la solución de infusión y la naturaleza del agente isotónico. La selección de un agente isotónico en particular se realiza en base a las propiedades del agente activo.

La concentración de agente isotónico en el medio acuoso dependerá de la naturaleza del agente isotónico específico utilizado. Cuando se utiliza glucosa, se utiliza preferentemente en una concentración de entre 1 y 5% p/v, más particularmente 5% p/v. Cuando el agente isotónico es cloruro de sodio se emplea preferentemente en cantidades de hasta 1% p/v, en particular 0,9% p/v.

La formulación de infusión puede diluirse con el medio acuoso. La cantidad de medio acuoso empleado como un diluyente se elige de acuerdo con la concentración deseada de Epotilona en la solución de infusión. Preferentemente la solución de infusión se hace mediante la mezcla de una ampolla o ampolleta del concentrado de infusión antes mencionado con un medio acuoso, incrementando el volumen hasta entre 20 ml y 200 ml, preferentemente entre aproximadamente 50 y aproximadamente 100 ml, con el medio acuoso.

Las soluciones de infusión pueden contener otros excipientes empleados comúnmente en las formulaciones que se administrarán en forma intravenosa. Los excipientes incluyen antioxidantes.

Los antioxidantes pueden emplearse para proteger la epotilona contra la degradación oxidativa. Los antioxidantes pueden elegirse entre cualquiera de aquellos antioxidantes conocidos en el arte y adecuados para las formulaciones intravenosas. La cantidad de antioxidante puede determinarse mediante la experimentación de rutina. Como alternativa a la adición de un antioxidante, o además de ello, puede lograrse el efecto antioxidante mediante el desplazamiento del oxígeno (aire) del contacto con la solución de infusión. Esto puede realizarse de manera conveniente mediante la purga del contenedor que contiene dicha solución con un gas inerte, por ejemplo nitrógeno.

Las soluciones de infusión pueden prepararse mediante la mezcla de una ampolla o ampolleta de la formulación con un medio acuoso, por ejemplo una solución de glucosa al 5% p/v en API o especialmente una solución al 0,9% de cloruro de sodio en un contenedor adecuado, por ejemplo una bolsa o botella de infusión.

## ES 2 354 193 T3

La solución de infusión, una vez formada, se utiliza preferentemente en forma inmediata o al poco tiempo de ser formada, por ejemplo dentro de las 6 horas.

5 Los contenedores para albergar las soluciones de infusión pueden elegirse entre cualquier contenedor convencional que no sea reactivo con la solución de infusión. Los contenedores de vidrio hechos a partir de aquellos tipos de vidrio mencionados con anterioridad son adecuados aunque se puede preferir la utilización contenedores plásticos, por ejemplo bolsas de infusión plásticas.

10 Los contenedores plásticos pueden ser principalmente aquellos compuestos de polímeros termoplásticos. Los materiales plásticos pueden comprender adicionalmente aditivos, por ejemplo plastificantes, rellenos, antioxidantes, antiestáticos y otros aditivos convencionales en el arte.

15 Los plásticos adecuados para la presente invención deberían ser resistentes a las temperaturas elevadas requeridas para la esterilización térmica. Las bolsas de infusión plásticas preferentes son aquellas hechas a partir de materiales plásticos de PVC conocidos en el arte.

20 Se puede emplear un amplio rango de tamaños de contenedores. Cuando se selecciona el tamaño del contenedor, se debe considerar la solubilidad de la epotilona en el medio acuoso y la facilidad para el manejo y, si es apropiado, almacenamiento del contenedor.

Se prefiere la utilización de contenedores que pueden albergar entre aproximadamente 250 y 1000 ml de solución de infusión, pero preferentemente entre aproximadamente 50 y aproximadamente 120 ml.

25 Las soluciones de infusión actúan de un modo similar a las soluciones de infusión de los agentes paclitaxel que interactúan con microtúbulos, y son beneficiosas en el tratamiento de enfermedades para las cuales el paclitaxel se podría utilizar. Para ciertos tumores las epotilonas ofrecen efectos beneficiosos potenciados en comparación con el paclitaxel.

30 Las formas de dosis pueden administrarse de manera conveniente de modo intravenoso en una dosis de hasta aproximadamente 18 mg/m<sup>2</sup> de Epotilona B. La dosis exacta requerida y la duración de la administración dependerán de la gravedad de la enfermedad y la tasa de administración, y es preferentemente como se definió con anterioridad. Dado que la dosis puede suministrarse de modo intravenoso, la dosis recibida y la concentración en sangre pueden determinarse con precisión en base a técnicas *in vivo* e *in vitro* conocidas.

35 Las composiciones farmacéuticas para la administración oral pueden obtenerse mediante la combinación de ingredientes activos con excipientes sólidos, si se desea mediante la granulación de una mezcla resultante, y el procesamiento de la mezcla, si se desea o es necesario, después de la adición de excipientes apropiados, en forma de pastillas, núcleos de grageas o cápsulas. También es posible que sean incorporados dentro de excipientes plásticos que permiten que los ingredientes activos se difundan o sean liberados en cantidades medidas.

40 Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados son especialmente los rellenos, tales como los azúcares, por ejemplo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol, preparaciones de celulosa y/o fosfatos de calcio, por ejemplo fosfato tricalcio o fosfato del hidrógeno del calcio, y los ligantes, tales como las pastas de almidón que usan por ejemplo maíz, trigo, arroz o almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona, y/o, si se desea, desintegradores, tales como los almidones antes mencionados, también carboximetil almidón, polivinilpirrolidona entrecruzada, agar, ácido algínico o una sal del mismo, tal como alginato de sodio. Los excipientes son especialmente acondicionadores de flujo y lubricantes, por ejemplo ácido silícico, talco, ácido esteárico o sales del mismo, tales como magnesio o estearato de calcio, y/o glicol de polietileno. Los núcleos de grageas se proporcionan con recubrimientos adecuados, opcionalmente entéricos, que están en uso, entre otros, soluciones de azúcar concentradas que pueden comprender goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, glicol de polietileno y/o dióxido de titanio, o soluciones de recubrimiento en disolventes orgánicos adecuados, o, para la preparación de recubrimientos entéricos, soluciones de preparaciones de celulosa adecuadas, tales como ftalato de etilcelulosa o ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa. Las cápsulas son cápsulas duras hechas de gelatina y cápsulas blandas hechas de gelatina y un plastificador, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden comprender el ingrediente activo en la forma de gránulos, por ejemplo con rellenos, tales como lactosa, ligantes, tales como almidón, y/o glidante, tales como talco o estearato de magnesio, y si se desea con estabilizadores. En las cápsulas blandas preferentemente se disuelve o suspende el ingrediente activo en excipientes aceitosos adecuados, tales como aceites grasos, aceite de parafina o glicoles de polietileno líquido, y también se pueden agregar estabilizadores y/o agentes antibacterianos. Los colorantes o pigmentos pueden agregarse a los recubrimientos de las pastillas o grageas o a la envoltura de las cápsulas, por ejemplo para fines de identificación o para indicar diferentes dosis de ingrediente activo.

55 En el caso de las combinaciones con otros agentes quimioterapéuticos, una combinación fija de dos o más componentes (a) y (b) como se definió anteriormente o dos o más formulaciones independientes (por ejemplo en un conjunto de partes) se preparan como se describió anteriormente, o el/los otro(s) agente(s) quimioterapéutico(s) se usa(n) en formulaciones estándar que se comercializan y son conocidas por los expertos en el arte.

## Ejemplos

Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar la presente invención pero no pretenden limitar su alcance. Especialmente las líneas celulares mencionadas allí no pretenden limitar el alcance de la invención dado que son meramente representativas y se pueden reemplazar con diferentes líneas celulares y células tumorales de las cuales son representativas.

### Preparación de soluciones de compuestos

Se prepara una solución madre de epotilona B a 10 mg/ml en DMSO y se almacena a -20°C. Se diluye las alícuotas en soluciones acuosas en una concentración final de DMSO al 5% v/v, de Tween 80 (monooleato de polioxietileno sorbitán; ICI Americas, Inc.) al 0,05% v/v, y de suero fisiológico al 95% v/v (0,9% p/v NaCl).

### Condiciones de las células y del cultivo celular

La línea celular HCT-15 (ATCC CCL 225) de adenocarcinoma colorectal humano pertenece a la Colección Americana de Cultivos Tipo (Rockville, MD, EE: UU.), y las células se cultivan *in vitro* como lo recomienda el proveedor. La HCT-12 es una línea celular de tipo epitelial (Cancer Res. 39 1020-25 [1979]) que es resistente a múltiples fármacos en virtud de la sobreexpresión de la P-glicoproteína (P-gp, gp170, MDR-1; Anticancer Res. 11 1309-12; J. Biol. Chem. 264: 18031-40 [1989]; Int. J. Cancer 1991; 49: 696-703 [1991]) y los mecanismos de resistencia dependientes de glutatión (Int. J. Cancer 1991; 49: 688-95. [1991]).

La línea celular Colo 205 también es una línea celular de carcinoma de colon humano (ATCC No. CCL 222; véase también Cancer Res. 38, 1345-55 [1978] que fue aislada a partir del fluido ascítico de un paciente, muestra morfología de tipo epitelial y se la considera generalmente sensible a los fármacos.

Se usa una línea celular humana de cáncer de próstata independiente del andrógeno para establecer modelos subcutáneos y ortotópicos en ratones. El carcinoma de próstata metastásico humano PC-3M se obtiene a partir de Dr. I.J. Fidler (MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, EE. UU.) y se cultiva en medios Ham F12K suplementados con FBS al 7% v/v. La línea celular PC-3M es el resultado del aislamiento a partir de la metástasis de hígado en ratones desnudos posterior a la inyección intrasplénica de células PC-3 [ATCC CRL 1435; Colección Americana de Cultivos Tipo (Rockville, MD, EE. UU.)], y pueden crecer en MEM de Eagle suplementado con 10% de suero fetal bovino, piruvato de sodio, aminoácidos no esenciales, L-glutamina, una solución de doble vitamina (Gibco Laboratories, Long Island, NY.) y penicilina-estreptomina (Flow Laboratories, Rockville, Md.). La línea celular PC-3M es insensible a hormonas (es decir, crece en la ausencia de andrógenos). La línea celular PC-3 es receptor de andrógenos negativa, al igual que lo es presumiblemente la línea celular PC-3M derivada. La PC-3 es una línea celular disponible en ATCC (ATCC CRL 1435) y corresponde a un adenocarcinoma prostático de grado IV aislado a partir de un varón caucásico de 62 años de edad; las células exhiben baja actividad de ácido fosfatasa y testosterona-5- $\alpha$ -reductasa. Las células son casi triploides con un número modal de 62 cromosomas. Los cromosomas anormales Y pueden detectarse mediante el análisis de banda Q.

El adenocarcinoma de pulmón humano A549 (ATCC CCL 185; aislado como cultivo de explante a partir de un tejido de carcinoma de pulmón de un varón caucásico de 58 años de edad); muestra morfología epitelial y puede sintetizar lecitina con un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados que usan la vía citidina difosfocolina; se encuentra en todas las metafases un cromosoma marcador subteloecéntrico que implica un cromosoma 6 y el brazo largo de un cromosoma 1. El carcinoma de mama humano ZR-75-1 (ATCC CRL 1500; aislado a partir de una efusión ascítica maligna de una mujer caucásica de 63 años de edad con carcinoma ductal infiltrante); es de origen epitelial mamario; las células tienen receptores para estrógenos y otras hormonas esteroides y tienen un número de cromosomas hipertriploides.

La línea celular del carcinoma epidermal (de boca) humano KB-8511 (una línea celular con sobreexpresión derivada de una línea celular de carcinoma KB-31 epidermoide (de boca)) se obtiene de Dr. R.M. Baker, Roswell Park Memorial Institute (Buffalo, NY., EE. UU.) (para una descripción véase Akiyama *et al.*, Somat. Cell. Mol. Genetics 11, 117-126 (1985) y Fojo A., *et al.*, Cancer Res. 45, 3002-3007 (1985)) y se cultiva como se describió con anterioridad (Meyer, T., *et al.*, Int. J. Cancer 43, 851-856 (1989)). Las células KB-8511, como las KB-31, se derivan a partir de la línea celular KB (ATCC) y son células de carcinoma epidermal humano; las células KB-31 pueden cultivarse en monocapa utilizando un medio de Eagle modificado de Dulbecco (D-MEM) con 10% de suero fetal bovino (M.A. Bioproducts), L-glutamina (Flow), penicilina (50 unidades/ml) y estreptomina (50  $\mu$ g/ml) (Flow); después crecen con un tiempo de duplicación de 22 horas, y su eficiencia relativa de cultivo en placa es de aproximadamente el 60%. La KB-8511 es una línea celular derivada a partir de la línea celular KB-31 mediante la utilización de ciclos de tratamiento con colchicina; muestra una resistencia relativa 40 veces mayor contra la colchicina cuando se la compara con las células KB-31; se puede cultivar bajo las mismas condiciones que las KB-31.

Para mayores detalles sobre las características de las líneas celulares, véase el catálogo de ATCC y las referencias citadas allí, o las otras referencias citadas con anterioridad.

## ES 2 354 193 T3

Las siguientes líneas celulares mencionadas con anterioridad han sido depositadas bajo el Tratado de Budapest el 20 de febrero de 1998, en el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ, Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Alemania) bajo los siguientes números de accesoión, respectivamente: PC-3M: DSM ACC2338; A-549: DSM ACC2337; KB-8511: DSM ACC2342.

Además, las siguientes líneas celulares mencionadas con anterioridad han sido depositadas bajo el Tratado de Budapest el 1<sup>ero</sup> de diciembre de 1998 en el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ, Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Alemania) bajo los siguientes números de accesoión, respectivamente: ZR-75-1: DSM ACC2376; HCT-15: ACC2377.

A continuación, se describen los métodos generales para las pruebas realizadas. Donde se mencionan condiciones especiales, éstas prevalecen por sobre las descripciones generales presentadas en los siguientes párrafos:

### 15 *Ensayos antiproliferativos*

Los ensayos antiproliferativos se realizan como se describió con anterioridad (Int. J. Cancer 43, 851-6 (1989)). Brevemente, las células se siembran  $1,5 \times 10^3$  células/pozo en placas de microtitulación de 96 pozos y se incuban durante toda la noche. Se agregan los compuestos en diluciones seriales el día 1. Se incuban después las placas durante de 2 a 5 días adicionales, permitiendo por lo menos una duplicación celular (dependiendo de la línea celular), después de la cual las células se fijan con glutaraldehído al 3,3% v/v, se lavan con agua y se tiñen con azul de metileno al 0,05% p/v. Después del lavado, se diluye la tintura con HCl al 3% v/v y se mide la densidad óptica a 665nm con un SpectraMax 340 (Bucherer, Basel, Suiza). Los valores IC50 se determinan mediante un sistema computarizado (SoftPro, Bucherer, Basel, Suiza) utilizando la fórmula  $(OD\ test - OD\ start) / (OD\ control - OD\ start) \times 100$ . El valor IC50 se define como la concentración de fármaco que conduce al 50% de células por pozo comparado con los cultivos de control (100%) al final del período de incubación.

### 30 *Actividad antitumoral in vivo contra tumores trasplantados s.c.*

Los ratones BALB/c nu/nu (desnudos) hembras o machos se mantienen bajo condiciones de esterilidad (de 10 a 12 ratones por jaula Tipo III) con acceso libre a comida y agua. Los ratones pesan entre 20 y 25 gramos al momento de la implantación del tumor. Los tumores son establecidos mediante inyección subcutánea de células (mínimo  $2 \times 10^6$  células en 100  $\mu$ l PBS o medio) en ratones portadores (4-8 ratones por línea celular). Los tumores resultantes son sometidos a pasaje seriado por un mínimo de tres trasplantaciones consecutivas antes de comenzar el tratamiento. Los fragmentos tumorales (aproximadamente 25 mg) se implantan s.c. dentro del flanco izquierdo de los animales con una aguja trocar calibre 13 mientras que se expone a los ratones a anestesia Forene (Abbott, Suiza).

Se monitorea el crecimiento del tumor y los pesos corporales una o dos veces por semana. Todos los tratamientos se administran de modo intravenoso (i.v.) y se inician cuando se alcanza un volumen tumoral promedio de aproximadamente de 100 a 250 mm<sup>3</sup>, dependiendo del tipo de tumor. Los volúmenes del tumor se determinan utilizando la fórmula  $(L \times D \times \pi/6)$  (véase Cancer Chemother. Pharmacol. 24: 148-154, [1989]). Los tratamientos con epotilona B varían la dosis y la frecuencia de administración. Los agentes de comparación se administran de acuerdo con los regímenes de tratamiento opcionales previamente determinados. Además de presentar cambios en los volúmenes tumorales a lo largo del tratamiento, la actividad antitumoral se expresa como T/C% (incremento promedio de los volúmenes tumorales de animales tratados dividido por el incremento promedio de los volúmenes tumorales de los animales de control multiplicado por 100). La regresión tumoral (%) representa el volumen tumoral promedio más pequeño comparado con el volumen tumoral promedio al comienzo del tratamiento, de acuerdo con la fórmula  $Regresión\ (\%) = (1 - V_{final}/V_{comienzo}) \times 100$  ( $V_{final}$  = volumen tumoral promedio final,  $V_{comienzo}$  = volumen tumoral promedio al comienzo del tratamiento). Se sacrifica a todo animal en el cual el tumor ha alcanzado un tamaño que excede aproximadamente 1,5 a 2,5 cm<sup>3</sup>. Los detalles se pueden encontrar más abajo.

### 55 *Actividad antitumoral in vivo contra células inyectadas de forma ortotópica*

Las células PC-3M del carcinoma de próstata humano ( $1 \times 10^6$  células por 20  $\mu$ l de solución salina amortiguada con fosfato) se inyectan dentro del ventrículo izquierdo de la próstata de cada animal (n=6-9/grupo) de acuerdo con los métodos antes descritos (véase Stephenson *et al.*, J. Natl. Cancer Inst. 84, 951-7 (1992)). El tratamiento se comienza el día 14 después de la inyección de células. En este momento se establece un peso tumoral promedio de -20 mg. La epotilona B se administra una vez o una vez por semana. Los ratones se sacrifican 42 días después de la inoculación del tumor, y las próstatas se extraen cuidadosamente, se les disecciona los tejidos adherentes y se pesan. Se examinan los ganglios linfáticos mesangiales en busca de la presencia de metástasis, se les diseccionan los tejidos adherentes y se los pesa. Se examinan los ganglios linfáticos mesentéricos en busca de la presencia de metástasis, se les diseccionan los tejidos adherentes y se los pesa.

Se monitorea el peso del tumor y los pesos corporales una o dos veces por semana. Todos los tratamientos se administran por vía intravenosa (i.v.) y se inician 14 días después de la inyección de células. El tratamiento con epotilona B varía la dosis y la frecuencia de administración. La actividad antitumoral se expresa como T/V% (el

## ES 2 354 193 T3

peso tumoral promedio de los animales tratados dividido por el peso tumoral promedio de los animales de control multiplicado por 100).

### 5 *Análisis estadísticos*

La estrategia básica para el análisis estadístico consiste en usar pruebas para comparaciones múltiples para juzgar la relevancia estadística de las diferencias entre los grupos de tratamiento, y las diferencias dentro de un grupo (es decir, en comparación con el comienzo del tratamiento) para determinar si el tratamiento induce regresiones estables de la enfermedad o el tumor. Dado que los volúmenes tumorales subcutáneos no se distribuyen normalmente, las diferencias en los volúmenes tumorales subcutáneos entre los grupos de tratamiento se determinan utilizando la prueba ANOVA de una dirección no paramétrica de Kruskal-Wallis sobre datos distribuidos (Prueba de Suma de Rangos), y la relevancia estadística de las diferencias entre los grupos de tratamiento comparados con los grupos de control determinado utilizando la prueba Dunnett. Las comparaciones por parejas entre todos los grupos se realiza utilizando el método Student-Newman-Keuls (SNK). Los pesos de los órganos no se distribuyen siempre normalmente y se analizan utilizando pruebas no paramétricas (como se mostró anteriormente) o bien se transforman a normalidad (Log [peso del órgano]) y se analizan mediante ANOVA unidireccional de la prueba Dunnett (comparación a los controles) o utilizando la prueba de Tukey (comparaciones entre grupos). El análisis estadístico sobre los volúmenes tumorales  $\Delta$  utiliza la prueba ANOVA unidireccional de Kruskal-Wallis sobre datos distribuidos, comparando los grupos de tratamiento con los controles vehículos mediante la prueba de Dunnett. Las diferencias en los pesos corporales entre los grupos de tratamiento con los controles vehículos se analizan mediante pruebas t emparejadas. La Prueba Exacta de Fisher se utiliza para determinar la relevancia de las diferencias en mortalidad entre los grupos. Para todas las pruebas el nivel de relevancia se establece en  $p < 0,05$ , pero nótese que para estos tamaños de muestra pequeños, nunca se obtiene el nivel de potencia deseado de 0,8. Para el modelo ortotópico, se utiliza la prueba exacta de Fisher para determinar si las proporciones de ratones que sufren metástasis son diferentes entre los grupos de tratamiento y los de control. Todo cálculo estadístico se realiza utilizando SigmaStat 2.0 (Jandel Scientific).

### 30 *Material*

La epotilona B es purificada de los cultivos de la mixobacteria *Sorangium cellulosum* por el Departamento de Desarrollo y Producciones Biofarmacéuticas, Novartis Pharma, Basel, Suiza. El TAXOL<sup>®</sup> (paclitaxel formulado para la utilización clínica) se compra a Bristol Myers Squibb (Estados Unidos), paclitaxel a Calbiochem (Estados Unidos), y el 5-fluorouracilo (Fluorouracil<sup>®</sup>) es de Roche (Suiza). Los materiales del cultivo celular son de Integra BioSciences (Wallisellen, Suiza). Los medios líquidos, el suero fetal bovino (FBS) y los aditivos de medios son de Gibco/BRL (Basel, Suiza). Los ratones BALB/c nu/nu (desnudos) son de Bomholtgaard (Copenhague, Dinamarca) o se obtienen de Novartis Animal Farm (Sisseln, Suiza). Los ratones BALB/c normales son de Iffa Credo (Francia) o se obtienen de Novartis Animal Farm (Sisseln, Suiza).

### 40 *Determinación de la dosis máxima tolerada (MTD)*

Para la determinación de la MTD, se trata a los ratones BALB/c desnudos hembra o a los ratones BALB/c (obtenidos de Novartis Animal Farm, Sisseln, Suiza) una vez por vía intravenosa con epotilona B (n=3 por grupo de dosis). La dosis se incrementa (2, 4, 6, 8, 10 y 12 mg/kg) y los ratones se observan en busca de la presentación de efectos tóxicos evidentes durante 10 días después del tratamiento con el fármaco.

50 (Tabla pasa a página siguiente)

55

60

65

## ES 2 354 193 T3

### Ejemplo 1

#### *Determinación de la dosis máxima tolerada (MTD)*

5 Los resultados a partir del estudio de dosis máxima tolerada (MTD) se presentan en la Tabla 1 y la Tabla 2.

TABLA 1

10 *Determinación de la MTD de la dosis intravenosa única para la epotilona B en ratones BALB/c hembra normales*

Peso corporal (promedio g  $\pm$  SD)

	Dosis	$\Delta$ (p valor)	% Cambio	Mortalidad
15	<b>Experimento 1</b>			
	12	-5,4 $\pm$ 2,9 (p = 0,085)	-23,6 $\pm$ 11,9	3/3
20	10	-5,6 $\pm$ 0,6 (p = 0,003)	-24,9 $\pm$ 1,6	3/3
	8	-5,1 $\pm$ 3,2 (p = 0,110)	-22,1 $\pm$ 13,1	3/3
25	6	-6,1 $\pm$ 0,9 (p = 0,007)	-28,6 $\pm$ 3,5	1/3
	<b>Experimento 2</b>			
	8	-5,0 $\pm$ 1,0 (p = 0,013)	-25,3 $\pm$ 3,9	3/3
30	6	-5,3 $\pm$ 0,6 (p = 0,004)	-27,5 $\pm$ 2,1	2/3
	4	1,3 $\pm$ 0,6 (p = 0,057)	6,5 $\pm$ 2,6	0/3
35	2	2,3 $\pm$ 0,6 (p = 0,02)	12,3 $\pm$ 3,0	0/3

40 La epotilona B se da como una dosis en bolo intravenosa única de 2, 4, 6, 8, 10 ó 12 mg/kg. Se monitorea la supervivencia y el peso corporal de los ratones diariamente. Los cambios ( $\Delta$ ) en los pesos corporales se determinan comparando el último peso corporal medido con el peso corporal antes del tratamiento.

TABLA 2

45 *Determinación de la MTD de la dosis intravenosa única para la epotilona B en ratones BALB/c hembra desnudos*

Peso corporal (promedio g  $\pm$  SD)

	Dosis	$\Delta$ (p valor)	% Cambio	Mortalidad
50	12	-5,1 $\pm$ 0,6 (p = 0,004)	-22,9 $\pm$ 3,1	3/3
55	10	-5,6 $\pm$ 3,3 (p = 0,336)	-23,7 $\pm$ 13,6	1/3
	8	-3,8 $\pm$ 2,7 (p = 0,250)	-16,8 $\pm$ 12,2	1/3
60	6	-1,0 $\pm$ 0,5 (p = 0,077)	-4,2 $\pm$ 2,1	0/3
	4	-0,4 $\pm$ 0,6 (p = 0,427)	-1,7 $\pm$ 2,9	0/3
	2	1,0 $\pm$ 0,5 (p = 0,071)	4,2 $\pm$ 2,1	0/3
65	0	0,6 $\pm$ 0,6 (p = 0,151)	3,0 $\pm$ 2,9	0/3

## ES 2 354 193 T3

La epotilona B se da como una dosis en bolo intravenosa única de 2, 4, 6, 8, 10 ó 12 mg/kg. Se monitorea la supervivencia y los pesos corporales de los ratones diariamente. Los cambios ( $\Delta$ ) en los pesos corporales se determinan comparando el último peso corporal medido con el peso corporal antes del tratamiento.

- 5 De estos experimentos se deriva que en los ratones normales la MTD es aproximadamente 4 mg/kg, mientras que en los ratones desnudos la MTD es aproximadamente 6 mg/kg.

### Ejemplo 2

#### 10 *Toxicidad de la Epotilona B (Estudio comparativo de dos semanas de toxicidad intravenosa en ratones)*

15 Con el fin de evaluar la toxicidad intravenosa subcrónica de la epotilona B, se lleva a cabo un estudio de toxicidad intravenosa de dos semanas que no cumple con BPL en ratones BALB/c hembra normales que no tienen tumor, que implica análisis de mortalidad, signos clínicos, peso corporal, consumo de comida, hematología, bioquímica clínica, análisis de orina, y peso de los órganos así como exámenes macro y microscópicos. El estudio se basa en dos regímenes de dosis diferentes de epotilona B de 3 mg/kg y 10 mg/kg, respectivamente, administrados en los días 1 y 8 (8 animales por grupo). Se mata a la mitad de los animales en el día 15 (grupo principal) y se realiza una necropsia. Para la otra mitad (grupo de recuperación) se permite un período de recuperación de 5 semanas después de la administración de la 20 segunda dosis antes del sacrificio y posterior necropsia en el día 43. Sin embargo, para la dosis de 10 mg/kg se debió sacrificar a todos los animales del grupo de recuperación en forma prematura en el día 19, debido al compromiso del estado general.

25 No hubo mortalidad a lo largo del período de tratamiento en ninguno de los dos niveles de dosis (días 1-14) y para el grupo de dosis de 3 mg/kg todos los animales del grupo de recuperación sobrevivieron hasta el final del estudio. Se observa pérdida de peso corporal para todos los animales en el grupo de dosis de 10 mg/kg durante la primera y segunda semanas, mientras que la pérdida de peso corporal en la dosis de 3 mg/kg solamente es visible en la segunda semana. El desarrollo del peso corporal durante el período de recuperación es similar para los animales tratados y para los de control.

30 Ambos niveles de dosis de epotilona B inducen una reducción en el número de leucocitos, especialmente de neutrófilos y linfocitos, en todos los animales tratados (día 15), pero el efecto es más pronunciado en la dosis de 10 mg/kg. Además, se observan ligeros aumentos en el recuento de basófilos como así también niveles disminuidos de monocitos en algunos animales en particular en ambos niveles de dosis. Se registraron valores ligeramente inferiores en los parámetros de glóbulos rojos con aumentos en los reticulocitos y las plaquetas sólo para la dosis de 10 mg/kg. Al final del período de recuperación (día 43) los parámetros hematológicos son normales para dos de los cuatro animales de la dosis de 3 mg/kg del grupo de recuperación, mientras que los otros dos aún padecen recuentos reducidos de glóbulos blancos.

40 Sólo se observaron cambios menores en el perfil químico clínico de los animales tratados, que no pueden asociarse claramente con el tratamiento con epotilona B.

45 El tratamiento con epotilona B en ambos niveles de dosis conduce a cambios pronunciados en el peso del timo, bazo, y útero (día 15). Además, se observan reducciones ligeras en el peso del hígado. Se determina el peso de órgano para las glándulas suprarrenales, el hígado, el timo, el bazo, el cerebro, los ovarios, los riñones, el útero, y el corazón. Para la dosis de 3 mg/kg, los pesos de los órganos al final del período de recuperación (día 43) son comparables con los de los animales de control, lo cual indica una recuperación total. (No se toman los pesos de los órganos para los animales sacrificados de la dosis de 10 mg/kg del grupo de recuperación).

50 La investigación microscópica de los tejidos procesados de modo histológico seleccionados de animales sacrificados en el día 15 revela atrofia moderada a marcada del timo para la dosis de 3 mg/kg y la de 10 mg/kg, respectivamente. Además, se observa atrofia linfocítica mínima en el bazo, hipoplasia mieloide mínima a ligera en la médula ósea del esternón, y aumento mínimo de la hemopoiesis en el bazo en la dosis de 10 mg/kg. En la dosis de 3 mg/kg, la médula ósea del esternón muestra mínima a ligera atrofia eritroide y mieloide. Se detecta necrosis celular única mínima en la 55 mucosa intestinal (intestino delgado y grueso) en ambos niveles de dosis, pero con una mayor incidencia en la dosis de 10 mg/kg.

60 Los animales de los grupos de recuperación de ambos niveles de dosis muestran hiperplasia mieloide ligera y/o atrofia en la médula ósea. En el de 10 mg/kg se ve también atrofia linfocítica ligera en el bazo y además hay presencia de hemosiderosis ligera a moderada. No hay tejido tímico disponible para el examen microscópico de 10 mg/kg, indicando que la atrofia del timo podría estar presente también en estos ratones. No se encuentran alteraciones histológicas en el timo en el día 43 para los animales de la dosis de 3 mg/kg del grupo de recuperación.

65 En conclusión, en el nivel de dosis de 3 mg/kg (dosis en los días 1 al 8) se tolera la epotilona B sin mortalidad para el período total de observación de 43 días, mientras que los animales con dosis de 10 mg/kg tienen que ser sacrificados en el día 19, debido al compromiso del estado de salud. La pérdida de peso corporal ocurre en ambos niveles de dosis durante el tratamiento. La hematología revela valores inferiores para los leucocitos, neutrófilos y linfocitos con recuentos superiores de basófilos e inferiores de monocitos para algunos ratones en particular en ambos grupos de

## ES 2 354 193 T3

dosis. Además, se ve evidencia de anemia en ambos niveles de dosis. No se observan efectos sobre el perfil químico clínico. Se observa atrofia moderada a marcada del timo en 3 y 10 mg/kg después del período de tratamiento solamente (día 15), junto con atrofia linfoide mínima en el bazo en la dosis de 10 mg/kg. Además, se detecta hipoplasia mieloide en la médula ósea y hemopoyesis aumentada en el bazo en 10 mg/kg. Se ve atrofia eritroide y mieloide ligera de la médula ósea en 3 mg/kg. Se detecta necrosis celular única en la mucosa intestinal en 3 y 10 mg/kg al final del tratamiento solamente.

### Conclusiones

Las conclusiones más importantes que emergen a partir de los datos resumidos en los Ejemplos 1 y 2 para los descubrimientos toxicológicos con epotilona B se pueden resumir de la siguiente forma:

La MTD para la administración de una dosis única intravenosa de epotilona B a ratones normales y desnudos BALB/c corresponde a 4 mg/kg y 6 mg/kg, respectivamente. Por lo tanto, los ratones desnudos son menos sensibles que los ratones normales a los efectos tóxicos del compuesto.

En los ratones normales, se toleran razonablemente bien dos dosis de 3 mg/kg dadas con un intervalo de una semana y no causan mortalidad hasta el día 43 después de la dosis inicial. El mismo régimen de dosis en el nivel de dosis de 10 mg/kg tiene como resultado la muerte (o el sacrificio) de todos los animales tratados.

### Ejemplo 3

#### Actividad *in vitro* de epotilonas contra líneas celulares

Se confirma la potente actividad antiproliferativa de la epotilona B para algunas líneas celulares de cáncer humano; los resultados de estos experimentos se resumen en la Tabla 3. La epotilona B generalmente exhibe mayor potencia que el paclitaxel, particularmente contra las células cancerosas con un fenotipo de resistencia a múltiples fármacos (MDR) (por ejemplo KB-8511, HCT-15).

TABLA 3

#### *Actividad in vitro de las epotilonas contra las líneas celulares de carcinoma humano*

Valores IC50 [nM] para la inhibición del crecimiento de las líneas celulares de carcinoma humano mediante epotilona B en comparación con el paclitaxel (5 d exposición, promedio  $\pm$ SD, n = 3).

Los valores entre paréntesis indican resistencia relativa, es decir, IC50 (línea resistente)/IC50 (línea parental).

Línea Celular	epotilona B	paclitaxel
A549 (Pulmón)	0,19 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	3,75 $\pm$ 0,92
ZR-75-1 (Mama)	0,64 $\pm$ 0,42	3,60 $\pm$ 1,87
HCT-15 (Colon)	0,41 $\pm$ 0,15	106 $\pm$ 54
KB-8511 (Epidermoide, MDR)	0,89 $\pm$ 0,47 <sup>b</sup> (1,25)	994 $\pm$ 281 <sup>b</sup> . (343) <sup>a</sup>
PC-3M (Próstata)	3,82 $\pm$ 0,47 <sup>c</sup>	6,74 $\pm$ 0,72 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Promedio  $\pm$  SD, n = 2. <sup>b</sup> 2 d Exposición; <sup>c</sup> 3d exposición MDR = Resistente a múltiples fármacos

## Ejemplo 4

*Actividad antitumoral de las epotilonas contra tumores de adenocarcinoma HCT-15 colorectal humano*

5 Se utilizan los volúmenes tumorales como los indicadores primarios de la actividad de los agentes antitumorales utilizados solos o en combinación, y se miden los cambios en los pesos corporales como un indicador de tolerabilidad al tratamiento.

10 Como se puede deducir a partir de la Tabla 4, una dosis única de 4 mg/kg de epotilona B es capaz de producir regresiones tumorales ( $p < 0,05$  vs. vehículos controles; prueba de Dunnett) en tumores HCT-15 resistentes a fármacos con sobreexpresión de P-gp (Figura 1 y Tabla 1). Esta actividad es claramente superior a cinco administraciones de 20 mg/kg de TAXOL® o dos administraciones de 75 mg/kg de 5-fluorouracilo ( $p < 0,05$  vs. epotilona B; prueba SNK). Los tumores HCT-15 son resistentes tanto al TAXOL® como al 5-fluorouracilo, en que se obtienen los valores T/C finales de 50% y 88%, respectivamente (ambos  $p > 0,05$  vs. controles; prueba de Dunnett). El tratamiento de epotilona B se tolera bien en cuanto a que el peso corporal es estable bajo tratamiento; los ratones vehículos tratados ganan peso. No se observa mortalidad debido al tratamiento con epotilona B. En cambio, se observa cierta mortalidad con el tratamiento con TAXOL® (1/8 [12,5%] muertes) y un mayor grado de letalidad ocurre con el 5-fluorouracilo (4/8 [50%] muertes); sin embargo, debido al pequeño tamaño de los grupos de tratamiento, esto no alcanza relevancia estadística ( $p > 0,05$  vs. controles; Prueba Exacta de Fisher). Los ratones que sobreviven a cualquiera de los dos tratamientos demuestran pesos corporales estables.

Este resultado indica que la epotilona B produce un efecto antitumoral pronunciado contra los tumores HCT-15 resistentes a TAXOL® y 5-fluorouracilo y es bien tolerada en esta dosis de 4 mg/kg.

TABLA 4

*Efecto antitumoral de la epotilona B en comparación con el TAXOL® o 5-fluorouracilo contra el carcinoma de colon HCT-15 humano trasplantado de modo subcutáneo en ratones desnudos BALB/c hembra*

Compuesto	Dosis, Vía, Programa	Respuesta del Tumor			Respuesta del anfitrión		
		T/C	Regresión	Volumen Tumor D (mm <sup>3</sup> )	Peso Corporal D (grs.)	% Cambio Peso Corporal	Supervivencia (N° vivos/total)
Controles vehículo	25ml/kg, i.v. días 14, 16, 18, 20 y 22	100%	ninguna	1939 ± 333	2,1 ± 0,5 (p=0,003)	10 ± 2	8/8
Epotilona B	4mg/kg, i.v. una vez día 14	Regresión	- 61% -	- 97 ± 25 (p<0.05)	0,4 ± 0,3 (ns)	2 ± 2	8/8
5-fluorouracilo	75mg/kg, i.v. una vez día 14 y 21	88%	ninguna	1654 ± 824 (ns)	2,0 ± 0,7 (ns)	9 ± 4	4/8
TAXOL®	20mg/kg, i.v. días 14, 16, 18, 20 y 22	50%	ninguna	963 ± 298 (ns)	0,7 ± 0,6 (ns)	3 ± 3	7/8

65 Los fragmentos de tumor de aproximadamente 25 mg se implantan dentro del flanco izquierdo de cada ratón desnudo hembra (n = 8 por grupo). Los tratamientos comienzan el día 14 después de la trasplatación del tumor. La epotilona B se administra una vez en dosis de 4 mg/kg, por vía intravenosa, el día 14. El 5-Fluorouracilo se administra en dosis de 75 mg/kg, por vía intravenosa los días 14 y 21. El TAXOL® se administra en dosis de 20 mg/kg/día, por vía

## ES 2 354 193 T3

intravenosa, cada segundo día por 5 tratamientos (días 14, 16, 18, 20 y 22). La actividad antitumoral se expresa como T/C% (aumento promedio de los volúmenes tumorales de los animales tratados dividido por el aumento promedio de los volúmenes tumorales de los animales de control multiplicado por 100). La regresión tumoral (%) representa el volumen tumoral promedio final comparada con el volumen tumoral promedio al comienzo del tratamiento.  $\Delta$  Los volúmenes tumorales representan el volumen tumoral en el último día de tratamiento menos el volumen tumoral en el primer día de tratamiento. Para los análisis estadísticos de los  $\Delta$  volúmenes tumorales se utiliza la prueba de Dunnett para comparar los grupos de tratamiento con los de control. Para el análisis estadístico de los cambios de peso corporal se utilizan pruebas t emparejadas que comparan los pesos corporales antes del tratamiento con los pesos corporales al final del tratamiento; peso de los ratones -20-25 g al inicio del tratamiento. Se indica falta de relevancia mediante la abreviatura "ns". Los datos presentados son promedios  $\pm$  SEM a partir de animales que sobreviven al final del experimento.

### Ejemplo 5

*Efecto antitumoral de la epotilona B en comparación con el TAXOL<sup>®</sup> contra el carcinoma epidermoide KB-8511 humano trasplantado de forma subcutánea en ratones desnudos BALB/c hembra*

Como se puede deducir a partir de la Tabla 5, diferentes regímenes de epotilona B son capaces de inhibir el crecimiento de los tumores KB-8511 resistentes a TAXOL<sup>®</sup> en ratones desnudos. Una administración única de 4 mg/kg de epotilona B produce una regresión transitoria (- 51% en el día 25 posterior a la trasplatación;  $p < 0,05$  vs. vehículos controles, Dunnett), pero los tumores vuelven a crecer para el día 40 posterior al tratamiento que da como resultado un T/C final de 24% ( $p < 0,05$  vs. vehículos controles, Dunnett). Esta administración única de epotilona B es bien tolerada produciendo pesos corporales estables, y sin mortalidad.

La administración intravenosa de una vez por semana de epotilona B da como resultado la inhibición dependiente de dosis del crecimiento del tumor: 4 mg/kg produce regresiones del 98% ( $p < 0,05$  vs. vehículos controles; Dunnett); 2 mg/kg, produce regresiones transitorias del 44% y un T/C final de 14% (ambos  $p < 0,05$  vs. vehículos controles; Dunnett); 1 mg/kg produce un T/C final del 81% ( $p > 0,05$  vs. vehículos controles; Dunnett). El TAXOL<sup>®</sup> es inactivo contra los tumores KB-851 (T/C del 132%,  $p > 0,05$  vs. vehículos controles; Dunnett). Al final del experimento, 5/8 ratones tratados con 4 mg/kg/semana, y 1/8 ratones tratados con 2 mg/kg/semana de epotilona B tienen tumores indetectables. Aunque 4 mg/kg una vez por semana tienden a reducir los pesos corporales ( $-5 \pm 7\%$ ), esto no alcanza relevancia estadística. Los vehículos controles, 2 y 1 mg/kg/semana de epotilona B, y los grupos de TAXOL<sup>®</sup> todos muestran pesos corporales crecientes, y no hay mortalidad, lo cual sugiere que los tratamientos son bien tolerados.

Estos resultados indican que la epotilona B es efectiva contra los tumores epidermoides experimentales que son resistentes al TAXOL<sup>®</sup>.

(Tabla pasa a página siguiente)

## ES 2 354 193 T3

TABLA 5

*Efecto antitumoral de la epotilona B en comparación con el TAXOL® contra el carcinoma epidermoide KB-8511 humano trasplantado de forma subcutánea en ratones desnudos BALB/c hembra*

Compuesto	Dosis, Vía, Programa	Respuesta del tumor			Respuesta del anfitrión		
		T/C	Regresión	Volumen Tumor D (mm3)	Peso Corporal D (grs.)	% Cambio Peso Corporal	Supervivencia (N° vivos/total)
Controles vehículo	25ml/kg, i.v. una vez por semana	100%	ninguna	2001 ± 405	2,6 ± 0,3 (p<0.001)	12 ± 2	8/8
epotilona B	4mg/kg, i.v. una vez el día 13	24%	- 51 % (transitoria)	484 ± 103(p<0,05)	0,6 ± 0,6 (ns)	3 ± 2	8/8
epotilona B	4mg/kg, i.v. una vez por semana	Regresión	- 98%	- 107 ± 14 (p<0,05)	-1,1 ± 0,4 (ns)	-5 ± 3	8/8
epotilona B	2mg/kg, i.v. una vez por semana	14%	- 44% (transitoria)	289 ± 204(p<0,05)	1,1 ± 0,4 (p=0,031)	5 ± 2	8/8
epotilona B	1 mg/kg, i.v. una vez por semana	81%	ninguna	1620 ± 290 (ns)	2,6 ± 0,3 (p=0,008)	12 ± 1	8/8
TAXOL®	20mg/kg, i.v. días 13, 15, 17, 19 y 21	132%	ninguna	2662 ± 509 (ns)	3,3 ± 0,6 (p<0,001)	15 ± 3	8/8

Los fragmentos de tumor de aproximadamente 25 mg se implantan dentro del flanco izquierdo de cada ratón desnudo hembra (n = 8 por grupo). Los tratamientos comienzan el día 13 después de la trasplatación del tumor. Se administra epotilona B una vez en dosis de 4 mg/kg, por vía intravenosa, el día 13, o una vez por semana en dosis de 4, 2 ó 1 mg/kg, por vía intravenosa, (los días 13, 21 y 27). El TAXOL® se administra por vía intravenosa en dosis de 20 mg/kg/día cada segundo día por 5 tratamientos (días 13, 15, 17, 19 y 21). La actividad antitumoral se expresa como T/C% (aumento promedio de los volúmenes tumorales de los animales tratados dividido por el aumento promedio de los volúmenes tumorales de los animales de control multiplicado por 100). La regresión tumoral (%) representa el volumen tumoral promedio final comparado con el volumen tumoral promedio al comienzo del tratamiento. Los cambios ( $\Delta$  en los volúmenes tumorales representan el volumen tumoral en el último día de tratamiento menos el volumen tumoral en el primer día de tratamiento. Para los análisis estadísticos de los  $\Delta$  volúmenes tumorales se utiliza la prueba de Dunnett para comparar los grupos de tratamiento con los de control. Para los análisis estadísticos de los cambios de peso corporal se utilizan pruebas t emparejadas que comparan los pesos corporales antes del tratamiento con los pesos corporales al final del tratamiento; peso de los ratones -20-25 g al inicio del tratamiento. Se indica falta de relevancia mediante la abreviatura "ns". Los datos presentados son promedios  $\pm$  SEM de animales que sobreviven al final del tratamiento.

De este experimento se deriva que, mientras el TAXOL® no es efectivo, el tratamiento con epotilona B muestra actividad antitumoral efectiva; se puede encontrar incluso regresión con la dosis de 4 mg/kg.

## Ejemplo 6

*Actividad antitumoral de las epotilonas contra las células de próstata PC-3M inyectadas de forma ortotópica*

5 Los resultados que determinan la actividad de la epotilona B contra los tumores PC-3M que crecen inicialmente en la próstata y después forman metástasis en los ganglios linfáticos mesangiales se presentan en la Tabla 6.

10 En este modelo experimental de cáncer de próstata, las células PC-3M crecen inicialmente en la próstata y después forman metástasis en los ganglios linfáticos mesentéricos. Se utilizan los pesos de los órganos para evaluar la actividad antitumoral de los tratamientos.

15 La Tabla 6 representa el progreso del cáncer experimental a partir de los 14 días posteriores a la inyección de células (inicio del tratamiento), donde no se observa implicación de los ganglios linfáticos, a los 42 días posteriores a la inyección de células, donde la próstata y los ganglios linfáticos mesentéricos aumentan de peso dramáticamente. Todos los regímenes de administración de la epotilona B son altamente efectivos (todos  $p < 0,05$  versus controles; prueba de Dunnett sobre datos transformados logarítmicamente) en la reducción de los pesos de la próstata y evitan la metástasis del tumor a los ganglios linfáticos mesentéricos. Todos los tratamientos activos son equivalentes en actividad antitumoral ( $p > 0,05$ ; de Dunn). En cada uno de los grupos de tratamiento con epotilona B, sólo un animal tiene metástasis detectable, comparado con todos los animales en los controles vehículos tratados ( $p < 0,05$ ; prueba Exacta de Fisher), indicando que el tratamiento con epotilona B reduce significativamente la formación de metástasis detectable.

20 Los tratamientos con epotilona B no son bien tolerados en las dosis superiores. Mientras que una administración única de 6 mg/kg, o dos administraciones de 4 mg/kg, sólo tienden a reducir los pesos corporales, la administración de 8 mg/kg una vez, o 5 mg/kg una vez a la semana, producen pérdidas significativas en el peso corporal (Tabla 6). El tratamiento parece promover la supervivencia de los ratones que tienen el tumor; sin embargo, probablemente debido a los números pequeños por grupo de tratamiento, esto sólo alcanza relevancia estadística con el régimen de 6 mg/kg (una vez) ( $p = 0,029$ , prueba Exacta de Fisher sobre números de supervivencia finales).

30 La epotilona B demuestra excelente actividad antitumoral en este modelo, tanto en términos de reducción de tumores primarios como de prevención de metástasis. Sin embargo, la epotilona B, en algunos regímenes, no es bien tolerada.

35 Los resultados de este estudio indican que la epotilona B es activa contra los carcinomas de próstata humanos tanto *in vitro* como *in vivo* (véase el Ejemplo 3). La epotilona B es capaz de reducir el crecimiento del tumor primario e inhibir potentemente la formación de metástasis detectable en un modelo ortotópico de cáncer de próstata. Además, también puede promover la supervivencia de estos ratones que tienen el tumor, aunque esto necesita ser examinado en experimentos adicionales. Paralelamente con su potente actividad antitumoral, el tratamiento con epotilona B produce pérdidas de peso corporal significativas con los regímenes de dosis probados. Sin embargo, las razones para esta mala tolerabilidad son desconocidas.

45 La actividad de la epotilona B en el modelo PC-3M ortotópico es especialmente notable. Los modelos ortotópicos son diseñados para implantar el tumor dentro de los tejidos donde se ubica el tumor primario en los humanos, y a diferencia de la mayoría de los modelos de implantación subcutánea de tumores, las metástasis aparecen frecuentemente. Por lo tanto, la represión del crecimiento del tumor primario en la próstata mediante epotilona B, y la inhibición de la formación y/o crecimiento de las metástasis de los ganglios linfáticos mesentéricos representa una actividad significativa de la epotilona B.

50 En resumen, debido a la potente actividad antitumoral en los modelos de cáncer de próstata experimentales, que se consideran relativamente resistentes a la quimioterapia (Br. J. Cancer 75, 1593-600 (1997)), la epotilona B parece ser un agente prometedor para el tratamiento de cáncer de próstata.

55

60

65

## ES 2 354 193 T3

TABLA 6

*Efecto antitumoral de la epotilona B contra células de carcinoma de próstata PC-3M humano inyectadas de forma ortotópica en ratones BALB/c desnudos macho*

	Compuesto	Dosis, Vía, Programa	Respuesta del tumor (T/C%)		Respuesta del anfitrión		
			Próstata	Ganglios linfáticos	Peso Corporal $\Delta$ (grs.)	% Cambio Peso Corporal	Supervivencia (N° vivos/total)
5							
10	Controles vehículo	25ml/kg, i.v. una vez	100%	100%	-1,6 $\pm$ 1,8 (ns)	-5 $\pm$ 9	4/9
15	epotilona B	8mg/kg, i.v. una vez	1	4	-5,2 $\pm$ 4,3 (p=0,009)	-13 $\pm$ 15	7/9
20		6mg/kg, i.v. una vez	5	4	-1,4 $\pm$ 4,1 (ns)	-6 $\pm$ 12	9/9
25							
	Compuesto	Dosis, Vía, Programa	Respuesta del tumor (T/C%)		Respuesta del anfitrión		
			Próstata	Ganglios linfáticos	Peso Corporal $\Delta$ (grs.)	% Cambio Peso Corporal	Supervivencia (N° vivos/total)
30							
35		5mg/kg, i.v. una vez por semana	1	4	-6,8 $\pm$ 1,5 (p< 0,001)	-25 $\pm$ 5	7/9
40		4mg/kg, i.v. una vez por semana	2	4	-1,2 $\pm$ 2,3 (ns)	-1 $\pm$ 5	8/9
45							

Se inyecta  $1 \times 10^6$  PC-3M células en 20  $\mu$ L de PBS dentro del ventrículo izquierdo de la próstata de cada ratón desnudo macho (n = 9 por grupo). Los tratamientos comienzan el día 14 después de la inyección de células tumorales. Se administra la epotilona B por vía intravenosa, una vez en dosis de 6 u 8 mg/kg., o una vez por semana en dosis de 4 ó 5 mg/kg. La actividad tumoral se expresa como T/C% (peso tumoral promedio de los animales tratados dividido por el promedio del peso tumoral de los animales de control multiplicado por 100). Las diferencias en los pesos corporales consideran sólo a los animales que sobreviven hasta el final del experimento (día 42). Para los análisis estadísticos del  $\Delta$  peso corporal se utilizan pruebas t emparejadas que comparan los pesos corporales antes del tratamiento con los pesos corporales al final del tratamiento; peso de los ratones ~20-25 g al inicio del tratamiento. Se indica falta de relevancia mediante la abreviatura "ns".

### Ejemplo 7

*Efecto de la epotilona B contra el carcinoma de pulmón de células no pequeñas humano A549*

Se implantan 3-10 millones de células por vía subcutánea. dentro de la región (lateral) axilar derecha de ratones (nu/nu) exogámicos atímicos, y se les permite crecer hasta que se establece un volumen tumoral de aproximadamente 100 mm<sup>3</sup>. Se formula la epotilona B en 1% DMSO en 5% glucosa en agua destilada (D5W), y se administra por vía intravenosa una vez solamente, una vez por semana, 3 veces por semana, o 5 veces por semana. Se realizan los controles positivos con las formulaciones clínicas de TAXOL<sup>®</sup> diluido 6 veces más con D5W y se administra por vía intravenosa 3x/semana.

## ES 2 354 193 T3

La actividad antitumoral se expresa como % T/C (comparando  $\Delta$  volúmenes tumorales para el grupo de tratamiento con el grupo de control vehículo) al final del experimento. Se calculan las regresiones utilizando la fórmula:  $-(T/T_0 - 1) \times 100\%$ , donde T es el volumen tumoral para el grupo de tratamiento al final del experimento, y  $T_0$  es el volumen tumoral al comienzo del experimento. Se evalúa la relevancia estadística utilizando una prueba t de Student de una cola.

*Resultados:* La Tabla 7 resume los resultados para los tumores A549. La epotilona B induce inhibición tumoral significativa (T/C = 41%), con toxicidad indetectable, cuando se administra una vez en dosis de 6 mg/kg. Una dosis de 4 mg/kg administrada 1x/semana (4 mg/semana) induce estasis tumoral (T/C = 7%), pero también produce una pérdida de peso corporal del 13%. En comparación, a una dosis de 1,5 mg/kg administrada 3x/semana (4,5 mg/semana) todos los animales tienen que ser sacrificados en la primera semana del experimento debido a la toxicidad. Una dosis de 0,5 mg/kg, 5x/semana (2,5 mg/semana) induce una inhibición tumoral idéntica a aquella del régimen de una vez solamente (T/C = 41%), pero la evidente toxicidad acumulativa da como resultado una pérdida de peso del 23%. El TAXOL®, administrado 3x/semana con una dosis de 20 mg/kg no inhibe el crecimiento tumoral e induce una pérdida de peso corporal del 16%, con letalidad en 1 de 8 ratones.

TABLA 7

*Actividad antitumoral de la Epotilona B, comparada con el TAXOL®, en tumores de pulmón de células no pequeñas A549 en ratones desnudos*

Compuesto	Régimen	Dosis (mg/kg)	Vol. Tumoral promedio delta (mm <sup>3</sup> )	% T/C	% Regresión	% Peso corporal Delta	Muertos /total
1% DMSO/D5W	3x/sem.	-	439	-	ninguna	+8,9	0/7
Epotilona B	5x/sem.	0,5	178	41**	ninguna	-23,1	0/8
Epotilona B	3x/sem.	1,5	NE	NE	NE	NE	8/8
Epotilona B	1x/sem.	4	32	7**	ninguna	-13,2	0/8
Epotilona B	Una vez	6	178	41**	ninguna	+8,5	0/8
TAXOL® Cremophor®/etanol/D5W	3x/sem.	20	459	105	ninguna	-16,0	1/8
	-	-	207				

Los tratamientos comienzan el día 16 posterior a la implantación (10 millones de células/animal). Se administra la epotilona B por vía intravenosa una vez en dosis de 6 mg/kg (día 16), una vez por semana en dosis de 4 mg/kg (días 16, 23, y 30), tres veces por semana en dosis de 1,5 mg/kg (días 16, 18, 21, 23, 25, 28, 30, 32, y 35), o cinco veces por semana en 0,5 mg/kg (días 16-18, 21-25, 28-32, y 35-36). El TAXOL® se administra por vía intravenosa tres veces por semana en dosis de 20 mg/kg (días 16, 18, 21, 23, 25, 28, 30, 32, y 35) en dosis separadas de 10 mg/kg dadas con un intervalo de una hora. El vehículo control (1% DMSO/ D5W) se administra por vía intravenosa tres veces por semana (días 16, 18, 21, 23, 25, 28, 30, 32, y 35). Todos los datos finales se registran el día 37. Un asterisco sólo (\*) indica  $p < 0,05$ , y un asterisco doble (\*\*) indica  $p < 0,01$ , utilizando una prueba t de Student de un sola cola. "NE": no evaluable - animales sacrificados debido a la toxicidad del compuesto.

## ES 2 354 193 T3

### Ejemplo 8

*Actividad Antitumoral de la epotilona B comparada con el TAXOL® en tumores de pulmón de células no pequeñas A549 en ratones desnudos*

Los materiales y métodos concernientes al modelo xenográfico del tumor humano son como se describió con anterioridad. Se implantan 10 ó 1 millón de células (A549) por vía subcutánea dentro de la región (lateral) axilar derecha de ratones (un/un) exogámicos atímicos, y se les permite crecer hasta que se establece una masa de aproximadamente 100 mm<sup>3</sup>. La epotilona B se formula en 1% DMSO en 5% glucosa en agua destilada (D5W), y se administra por vía intravenosa una vez a la semana por 3 semanas. Se realizan los controles positivos con las formulaciones clínicas del TAXOL® diluido por 4 veces con D5W y se administra por vía intravenosa 3x/semana, durante 3 semanas, en dosis separadas (2 x 10 mg/kg) dadas con un intervalo de 1 hora.

La actividad antitumoral se expresa como % T/C (comparando  $\Delta$  volúmenes tumorales para el grupo de tratamiento con el grupo de control vehículo) al final del experimento. Se calculan las regresiones utilizando la fórmula:  $-(T/T_0 - 1) \times 100\%$ , donde T es el volumen tumoral para el grupo de tratamiento al final del experimento, y T<sub>0</sub> es el volumen tumoral al comienzo del experimento. Se toman medidas para un período de 2 semanas adicionales después del cumplimiento del experimento regular de 3 semanas, para evaluar la reversibilidad de la pérdida de peso corporal inducido por el fármaco, y la sostenibilidad de los efectos antitumorales. Se evalúa la relevancia estadística utilizando una prueba t de Student de una cola, y pruebas de Dunnnett, o de Dunn.

*Resultados:* La Tabla 8 resume los resultados para los tumores A549, para el experimento estándar de 3 semanas. La administración de una vez por semana de epotilona B produce relevancia significativa, la inhibición dependiente de dosis del crecimiento tumoral, acercándose a la estasis tumoral en las mayores concentraciones del fármaco. La epotilona B produce marcada inhibición del crecimiento tumoral en 3,5, y 3 mg/kg (T/C = 15%, y 23%, respectivamente). Ambas dosis causan pérdidas de peso corporal comparables, pero reversibles (véase la Tabla 8) de aproximadamente un 15%. Las dosis de 2, y 1 mg/kg produjeron 43%, y 74% T/C, que son estadísticamente significativas, sin aumento de peso corporal en 2 mg/kg, y aumento normal de peso corporal en 1 mg/kg. El TAXOL®, administrado 3x/semana en dosis separadas de 2 x 10 mg/kg no inhibe el crecimiento tumoral pero produce una pérdida de peso corporal del 19%.

TABLA 8

*Actividad antitumoral de la epotilona B, comparada con el TAXOL®, en tumores de pulmón de células no pequeñas A549 en ratones desnudos*

Compuesto	Dosis (mg/kg)	Vol. Tumoral promedio delta (mm <sup>3</sup> ± SEM)	% T/C	% Peso corporal Delta	Muertos/total
1% DMSO/D5W	-	262 ± 26	-	+7,7	0/8
Epotilona B	1	195 ± 21	74*,**	+10,8	0/8
Epotilona B	2	113 ± 21	43*,**	+0,9	8/8
Epotilona B	3	60 ± 22	23*,**	-16,4	0/8
Epotilona B	3,5	40 ± 15	15*,**	-14,6	0/8
Cremophor®/etanol/D5W	-	207 ± 26	-	+8,3	0/8
TAXOL®	20	293 ± 56	142	-19,1	0/8

Los tratamientos comienzan el día 13 posterior a la implantación (10 millones de células/animal). La epotilona B se administra por vía intravenosa una vez a la semana durante 3 semanas (días 13, 20, y 27) en dosis de 1, 2, 3, y 3,5 mg/kg. El TAXOL® se administra por vía intravenosa tres veces por semana durante 3 semanas en dosis de 20 mg/kg (días 14, 17, 19, 21, 24, 26, 28, 31, y 33) como dosis separadas de 10 mg/kg dadas con un intervalo de una hora. Los datos finales se registran el día 34. Un solo asterisco (\*) indica p < 0,05 utilizando una prueba t Student de una cola, y un asterisco doble (\*\*) indica p < 0,05 utilizando una prueba de Dunnnett o de Dunn.

## ES 2 354 193 T3

Se toman medidas para un período adicional de 2 semanas después del cumplimiento de los experimentos de 3 semanas, y los datos finales para la semana 5 se resumen en la Tabla 9. El efecto antitumoral permanece sin cambios, mientras que se han recuperado los pesos corporales de los animales. Los valores T/C para los niveles de dosis 3,5, 3, 2, y 1 mg/kg de epotilona B son 12%, 16%, 49% y 72%, respectivamente, y todos los grupos tienen aumento de peso normal. El TAXOL® permanece inefectivo y los animales muestran un aumento de peso de sólo el 2%.

TABLA 9

10 *Actividad antitumoral de la epotilona B, comparada con el TAXOL®, en tumores de pulmón de células no pequeñas A549 en ratones desnudos (observación extendida)*

15	Compuesto	Dosis (mg/kg)	Vol. Tumoral promedio delta (mm <sup>3</sup> ± SEM)	% T/C	% Peso corporal Delta	Muertos/total
20	1% DMSO/D5 W	-	472 ± 81	-	+11,8	0/8
25	Epotilona B	1	339 ± 24	72	+12,6	0/8
	Epotilona B	2	232 ± 39	49*	+13,5	8/8
	Epotilona B	3	75 ± 25	16*,**	+13,2	0/8
	Epotilona B	3,5	58 ± 25	12*,**	+9,7	0/8
30	Cremophor®/etanol/D5 W	-	355 ± 80	-	+13,0	0/8
	TAXOL®	20	509 ± 123	144	+1,7	0/8

35

Se extienden las medidas para el experimento descrito en la Tabla 1 por un período de dos semanas adicionales. Los datos finales se registran el día 48. Un asterisco solo (\*) indica  $p < 0,05$  utilizando una prueba t Student de una cola, y un asterisco doble (\*\*) indica  $p < 0,05$  utilizando una prueba de Dunnett o de Dunn.

40

### Ejemplo 9

#### *Efecto antitumoral de la epotilona B en tumores de mama ZR-75-1*

45

La Tabla 10 muestra los resultados de un experimento donde se compara el efecto del TAXOL® y la epotilona B en la línea celular de cáncer de mama ZR-75-1. Los métodos utilizados para este modelo de tumor se han descrito con anterioridad.

50

De estos datos se deriva que (juzgado sobre la eficiencia antitumoral) el mejor programa de dosis es uno donde se administra 4 mg/kg semanalmente. Sin embargo, se observa mortalidad con todas las dosis, sugiriendo que el tumor ZR-75-1 puede afectar la salud general de los ratones en comparación con otros tipos de tumores.

55

60

65

## ES 2 354 193 T3

TABLA 10

*Efecto antitumoral de la epotilona B contra los tumores de mama ZR-75-1 humano dependiente de estrógenos trasplantado de forma subcutánea en ratones desnudos BALB/c hembra*

Compuesto	Dosis, Vía, Programa	Respuesta del tumor			Respuesta del anfitrión		
		T/C (%)	Regresión	Volumen Tumor $\Delta$ (mm <sup>3</sup> )	Peso Corporal (grs.)	% Cambio Peso Corporal	Supervi- vencia (N <sup>o</sup> vivos/ total)
Controles vehículo	25ml/kg, i.v. cada 7 días	100	ninguna	444 $\pm$ 58	0,9 $\pm$ 0,4	4 $\pm$ 2	6/6
epotilona B	4mg/kg, i.v. cada 14 días	46	ninguna	208 $\pm$ 86	-1,6 $\pm$ 1,1	-7 $\pm$ 5	4/6
epotilona B	4mg/kg, i.v. cada 7 días	1	- 8% (transitoria)	29 $\pm$ 16	-1,2 $\pm$ 0,6	-5 $\pm$ 3	3/6
Compuesto	Dosis, Vía, Programa	T/C (%)	Regresión	Volumen Tumor $\Delta$ (mm <sup>3</sup> )	Peso Corporal (grs.)	% Cambio Peso Corporal	Supervi- vencia (N <sup>o</sup> vivos/ total)
epotilona B	2mg/kg, i.v. cada 7 días	40	ninguna	227 $\pm$ 76	-3,5 $\pm$ 1,6	-14 $\pm$ 6	5/6
epotilona B	1 mg/kg, i.v. cada 7 días	86	ninguna	393 $\pm$ 135	0,3 $\pm$ 1,2	2 $\pm$ 5	4/6

Los fragmentos de tumor de aproximadamente 25 mg se implantan dentro del flanco izquierdo de cada ratón desnudo hembra (n = 6 por grupo); se coloca un balín de estrógeno subcutáneo en el flanco opuesto. Los tratamientos comienzan el día 19 después de la trasplantación del tumor. La epotilona B se administra en dosis de 1, 2 o 4 mg/kg, por vía intravenosa una vez por semana (días 19, 26 y 33 o cada segunda semana (días 19 y 33)). Los datos presentados son de los animales que sobreviven al día 47, el último día de los controles. La actividad antitumoral se expresa como T/C% (aumento promedio de los volúmenes tumorales de los animales tratados dividido por el aumento promedio de los volúmenes tumorales de los animales de control multiplicado por 100). La regresión tumoral (%) representa el volumen tumoral promedio final comparado con el volumen tumoral promedio al comienzo del tratamiento. Los cambios ( $\Delta$ ) en el volumen tumoral representan el volumen tumoral el último día de tratamiento menos el volumen tumoral el primer día de tratamiento.

### Ejemplo 10

*Efecto antitumoral de la epotilona B en comparación con el 5-fluorouracilo contra los tumores de colon Colo 205 trasplantados de forma subcutánea*

La Tabla 11 muestra el efecto de la epotilona B contra los tumores Colo 205 trasplantados de forma subcutánea, así como el efecto del 5-fluorouracilo. A diferencia del tratamiento de los tumores de línea celular HCT-15, donde el tratamiento estándar con 5-fluorouracilo o tratamiento con TAXOL<sup>®</sup> no es efectivo, aquí el tratamiento con 5-fluorouracilo es aún efectivo, aunque mucho menos que con la epotilona B.

Junto con los datos a partir del ejemplo 4 donde las células HCT-15 no responden (son refractarias) tanto al TAXOL<sup>®</sup> como al tratamiento de cáncer de colon estándar con 5-fluorouracilo, esto muestra que la epotilona B es ciertamente apropiada para tratar los tumores que son refractarios a los tratamientos estándares conocidos. Por otro lado, también es más efectivo donde los tratamientos estándares funcionan. Puede deducirse un programa de tratamiento preferente que es 4 mg/kg cada 2 semanas (regresión tumoral, sin animales muertos). Este tratamiento es incluso mejor que aquel con 5-fluorouracilo donde no se encuentra regresión, pero sólo sobreviven 4 de 7 animales.

## ES 2 354 193 T3

TABLA 11

*Efecto antitumoral de la epotilona B en comparación con el 5-fluorouracilo contra los tumores de colon COLO 205 humano trasplantado de forma subcutánea en ratones desnudos BALB/c hembra (día 32, cuatro días posteriores al último tratamiento)*

5

Compuesto	Dosis, Vía, Programa	Respuesta del tumor			Respuesta del anfitrión		
		T/C	Regresión	Volumen Tumor $\Delta$ (mm <sup>3</sup> )	Peso Corporal $\Delta$ (grs.)	% Cambio Peso Corporal	Supervivencia (N° vivos/total)
Controles vehículo	25ml/kg, i.v. cada 7 días	100%	ninguna	380 $\pm$ 96	2,7 $\pm$ 0,3	11 $\pm$ 2	7/7
epotilona B	4mg/kg, i.v. cada 14 días	Regresiones	-69%	-62 $\pm$ 7	-1,1 $\pm$ 1,0	-4 $\pm$ 4	7/7
epotilona B	4mg/kg, i.v. cada 7 días	Regresiones	-87%	-83 $\pm$ 7	-4,0 $\pm$ 0,2	-18 $\pm$ 1	5/7
epotilona B	4mg/kg, i.v. una vez	Regresiones	-66%	58 $\pm$ 11	2,0 $\pm$ 0,1	9 $\pm$ 1	5/7
Fluorouracilo	75mg/kg, i.v. cada 7 días	18	ninguna	62 $\pm$ 12	2,2 $\pm$ 0,4	9 $\pm$ 2	4/7

10

15

20

25

30

35

40

45

Los fragmentos de tumor de aproximadamente 25 mg se implantan dentro del flanco izquierdo de cada ratón desnudo hembra (n = 7 por grupo); se coloca un balín de estrógeno subcutáneo sobre el flanco opuesto. Los tratamientos comienzan el día 14 después de la trasplatación del tumor. La epotilona B se administra en dosis de 4 mg/kg, por vía intravenosa una vez o bien una vez por semana (días 14, 21, 28) o cada segunda semana (días 14 y 28). Se administra 5-fluorouracilo por vía intravenosa en dosis de 75 mg/kg los días 14, 21, 28. Los datos presentados son de los animales que sobreviven al día 32, cuatro días después de los últimos tratamientos. La actividad antitumoral se expresa como T/C% (aumento promedio de los volúmenes tumorales de los animales tratados dividido por el aumento promedio de los volúmenes tumorales de los animales de control multiplicado por 100). La regresión tumoral (%) representa el volumen tumoral promedio final comparado con el volumen tumoral promedio al comienzo del tratamiento. Los cambios ( $\Delta$  en los volúmenes tumorales representan el volumen tumoral el último día de tratamiento menos el volumen tumoral el primer día de tratamiento.

### Ejemplo 11

50

*Un estudio de fase I de determinación de dosis de un agente único epotilona B administrado una vez cada semana a pacientes adultos con tumores sólidos avanzados*

*Número de centros 2*

55

### *Objetivos*

60

Primario: Caracterizar el perfil de seguridad, incluyendo tanto las toxicidades agudas como las acumulativas, y determinar la dosis máxima tolerada del agente único epotilona B administrado mediante infusión intravenosa una vez cada semana a pacientes adultos con tumores sólidos avanzados que han fracasado con la terapia sistémica estándar o para los cuales la terapia sistémica estándar no existe.

### Secundario:

65

1. Caracterizar la farmacocinética del agente único epotilona B administrado mediante infusión intravenosa una vez cada semana a esta población de pacientes; los datos obtenidos se utilizan en conjunto con los datos farmacodinámicos (por ejemplo, parámetros hematológicos), para realizar las correlaciones farmacocinéticas/farmacodinámicas (PK/PD) que ayudan a predecir la seguridad y la eficacia.

## ES 2 354 193 T3

2. Obtener la evidencia preliminar de actividad antitumoral del agente único epotilona B administrado mediante infusión intravenosa una vez cada semana a esta población de pacientes.
3. Correlacionar los niveles de fármaco intratumoral entre los pacientes adultos con tumores sólidos avanzados que reciben agente único epotilona B mediante infusión intravenosa una vez cada semana, con aquellos asociados con la eficacia en los modelos preclínicos.
4. Recabar información farmacogenética sobre los tumores en muestras de biopsia del tumor donde estén disponibles y accesibles pre y post-terapia a fin de identificar los genes que se correlacionan con la eficacia y la respuesta; esto se realiza mediante el análisis genético de la expresión genética individual (por ejemplo, p53, Map4, y mdrl estado de expresión) o bien mediante la tecnología del chip genético.

*Diseño:* Este es un estudio de incremento gradual de la dosis de diseño abierto para evaluar la seguridad, farmacocinética, y la farmacodinámica de la epotilona B administrada mediante infusión intravenosa una vez por semana a pacientes adultos con tumores sólidos avanzados que han fracasado con la terapia sistémica estándar o para los cuales no existe terapia sistémica estándar.

El período de tratamiento consiste en hasta 24 dosis semanales. Se discontinúa prematuramente a los pacientes que experimentan toxicidad inaceptable o progresión de la enfermedad. Los pacientes que alcanzan una respuesta completa o parcial, o los pacientes con enfermedad estable al final de las 24 dosis continúan con un tratamiento adicional de acuerdo con un protocolo de extensión a discreción del investigador y después de la aprobación del patrocinador. Los pacientes elegibles reciben ciclos adicionales hasta la progresión de la enfermedad o la toxicidad inaceptable.

Se utiliza el diseño de protocolo de Fase 1 estándar de ingresar 3-6 pacientes por cohorte para establecer la MTD. El incremento gradual de la dosis procede de acuerdo con un esquema tipo Fibonacci modificado y se basa en las toxicidades a partir de las primeras 4 dosis semanales para cada cohorte de pacientes. La dosis inicial es 0,1 mg/m<sup>2</sup>, con dosis posteriores del siguiente modo: 0,2, 0,3, 0,5, 0,7, y 0,9 mg/m<sup>2</sup>.

La MTD provisional se define como el nivel de dosis inmediatamente por debajo de aquel en el cual la toxicidad límite de dosis (DLT) se observa en por lo menos dos de los 3-6 pacientes. La cohorte definida como la MTD provisional después ingresa pacientes adicionales hasta un total de 12 para confirmar la MTD mediante la evaluación adicional de los perfiles de seguridad, farmacocinética, y farmacodinámica de la epotilona B.

Todas las toxicidades se definen de acuerdo con los Criterios de Toxicidad Común Revisados del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos. Las DLTs se definen en el protocolo; en general, sin embargo, la naturaleza de una DLT es tal que se considera inaceptable incluso ante la presencia de un tumor sólido incurable.

### 40 *Pacientes*

#### *Criterios de Inclusión*

Los siguientes criterios deben ser cumplidos para la inclusión en el estudio:

1. Pacientes de sexo masculino o femenino  $\geq 18$  años de edad.
2. Tumor sólido avanzado histológicamente documentado, que ha fracasado con la terapia sistémica estándar y hasta 1 terapia sistémica adicional, o para el cual no exista terapia sistémica estándar.
3. Por lo menos un sitio medible, evaluable, o no evaluable de enfermedad como lo definen los Criterios de Respuesta del Tumor Sólido del Southwestern Oncology Group (SWOG) incluyendo el valor marcador del tumor que se encuentra por encima del límite superior normal institucional.
4. Las mujeres con potencial de procreación deben tener una prueba de embarazo  $\beta$ -HCG en suero negativa antes del comienzo del fármaco del estudio. Los pacientes de sexo masculino y femenino con potencial de procreación deben aceptar el empleo de un método efectivo de control de natalidad a lo largo del estudio y por hasta 3 meses después de la discontinuación del fármaco del estudio.
5. Una calificación de  $\leq 2$  en el Estado de Desempeño de la Organización Mundial de la Salud (OMS).
6. Expectativa de vida de por lo menos 3 meses.
7. Consentimiento por escrito informado obtenido antes de cualquier procedimiento de selección.

## ES 2 354 193 T3

### *Criterios de Exclusión*

Se requiere la exclusión del estudio si cualquiera de los siguientes puntos aplican:

- 5 1. Pacientes de sexo femenino que están embarazados o amamantando. Las mujeres posmenopáusicas deben tener amenorrea durante por lo menos 12 meses para ser consideradas sin potencial de procreación.
2. El paciente tiene una enfermedad médica no controlada y/o grave (es decir, diabetes, insuficiencia cardiaca congestiva, infarto agudo de miocardio no controlados dentro de los 6 meses del estudio, enfermedad renal  
10 crónica, o infección activa no controlada).
3. El paciente tiene una metástasis cerebral conocida.
4. El paciente tiene una enfermedad de hígado crónica o aguda conocida (es decir, hepatitis activa crónica,  
15 cirrosis).
5. El paciente tiene un diagnóstico conocido de infección con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH).
6. El paciente ha recibido cualquier agente de investigación dentro de los 30 días anteriores al ingreso en el  
20 estudio.
7. El paciente recibió quimioterapia dentro de las 4 semanas (6 semanas para nitrosoureas o mitomicina C) anteriores al ingreso al estudio.
- 25 8. El paciente recibió terapia de irradiación con anterioridad dentro de las 4 semanas anteriores al ingreso al estudio.
9. El paciente recibió previamente radioterapia al  $\geq 25\%$  de la médula ósea.
- 30 10. El paciente tuvo una cirugía mayor dentro de las 2 semanas anteriores al ingreso al estudio.
11. El paciente tiene un historial de incumplimiento de los regímenes médicos.
12. El paciente tiene insuficiencia hepática, renal o hematológica como se define mediante los siguientes parámetros de laboratorio:  
35  
Recuento de plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$   
Recuento absoluto de neutrófilos (ANC)  $< 1,5 \times 10^9/L$   
40 Suero ALT (SGPT)  $> 2,5 \times$  límite superior normal institucional (IULN)  
Bilirrubina total en suero  $> 1,5 \times$  IULN  
45 Creatinina del suero  $> 1,5 \times$  IULN
14. El paciente no ha tenido otra neoplasia primaria durante los últimos 5 años o, en el caso del cáncer de piel no melanomatoso y el carcinoma cervical *in situ*, tiene enfermedad activa.

50 *Tamaño de la muestra:* Este estudio requiere aproximadamente 40 pacientes.

*Tratamientos:* La Epotilona B se suministra en ampollitas de vidrio individuales de 2 ml formuladas como 1 mg/1 ml del concentrado intravenoso incoloro claro. La sustancia se formula en glicol de polietileno 300 (PEG300) y se diluye con 50 a 100 ml de Inyección de Cloruro de Sodio al 0,9%, USP, para alcanzar la concentración final deseada del fármaco para infusión. Se administra como una infusión intravenosa única de 30 minutos cada 7 días.  
55

El nivel de la dosis inicial es  $0,1 \text{ mg/m}^2$ . Esta dosis se calcula como un tercio de la dosis tóxica mínima (TDL) en la especie más sensible estudiada que, para la epotilona B, es el perro. Como se describió con anterioridad, el incremento gradual de la dosis procede de acuerdo con el esquema tipo Fibonacci modificado. El estudio define demoras en el tratamiento, reducciones de dosis, o la retirada del tratamiento para los individuos que experimentan toxicidad hematológica o de otro tipo que se sabe que son producidas por la epotilona B. El tratamiento continúa hasta un máximo de 24 dosis semanales a menos que el paciente experimente progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable. Al final de las 24 dosis, los pacientes que han alcanzado una respuesta completa o parcial y los pacientes que han tenido una enfermedad estable pueden continuar con un tratamiento adicional de acuerdo con un protocolo de extensión a discreción del investigador y después de la aprobación del patrocinador.  
60  
65

*Seguridad*

5 *Variables:* La seguridad de la epotilona B se evalúa mediante el examen físico y la evaluación de signos vitales, resultados de laboratorio clínico, acontecimientos adversos, y utilización de medicaciones concomitantes. Los acontecimientos adversos son tanto obtenidos como ofrecidos voluntariamente y se clasifican utilizando los Criterios de Toxicidad Común Expandidos Revisados del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos.

*Eficacia*

10 *Variables:* Aunque este estudio de fase 1 no está diseñado para detectar la eficacia, la actividad se demuestra como una función del índice de respuesta tumoral objetiva y la extensión de la supervivencia libre de progresión y general. Las evaluaciones tumorales de referencia incluyen la evaluación óptima de todas las enfermedades medibles, evaluables, y no evaluables. Las evaluaciones incluyen el examen físico y el roentgenograma de pecho y, si es apropiado, tomografía computarizada de tórax, abdomen y pelvis; sonograma del abdomen y pelvis; escintigrafía de hueso, con roentgenograma de hueso para todas las lesiones óseas conocidas; y determinación de los valores marcadores de tumor. Los estudios de seguimiento se obtienen cada 6 semanas y después del cese del tratamiento.

20 El estado objetivo se evalúa clínicamente utilizando las pautas Novartis, que se basan en los criterios de respuesta del SWOG. Todas las respuestas completas y parciales deben ser confirmadas mediante una segunda evaluación por lo menos cuatro semanas más tarde. La mejor respuesta tumoral se calcula para cada paciente utilizando los criterios de respuesta del SWOG.

25 *Farmacocinética:* Los siguientes parámetros farmacocinéticos se calculan y se analizan para los ciclos 1 y 2:  $t_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $\lambda_z$ ,  $t_{1/2}$ , AUC, y  $R_A$ .  $R_A = \text{la proporción de } AUC\tau_{ciclo2} / AUO\tau_{ciclo1}$  se evalúa como un índice de acumulación. La evaluación preliminar de la proporcionalidad de dosis se basa en el AUC a partir de la última dosis entre diferentes grupos de dosis. Las correlaciones PK/PD con toxicidades observadas (por ejemplo, hematopoyética) se realizan como un indicador de seguridad.

30 *Farmacodinámica:* Las muestras de biopsias tumorales se obtienen donde es factible y accesible, antes de la terapia y después del primer ciclo de terapia. Estas muestras de biopsia son preparadas para el análisis de sus expresiones genéticas utilizando la tecnología de chip genético, después se analizan en forma separada para el estado p53, la expresión ARN de MAP4, y expresión ARN de mdrl.

*Estadística*

35 *Métodos:* Los pacientes con acontecimientos clínicos adversos que emergen durante el tratamiento (especialmente aquellos con toxicidad límite de dosis) o con anomalías en los resultados de laboratorio, en los signos vitales, en examen físico (recién aparecidas o que han empeorado a partir de los valores de referencia) se identifican y se resaltan los valores. El índice de anomalía se tabula por cohorte. Los índices de respuesta objetiva (incluyendo tanto las respuestas completas como parciales) se presentan por cohorte. Se utiliza la estadística descriptiva para resumir los parámetros farmacocinéticos básicos por cohorte.

*Ejemplo 12*

45 *Un estudio de fase 1 específico sobre la dosis de un agente único EPO906 (epotilona B) administrado una vez cada tres semanas a pacientes adultos con tumores sólidos avanzados*

50 *Número de centros: 2*

*Ubicación Glasgow, RU, & Newcastle, RU*

*Objetivos*

55 *Primario:* Caracterizar el perfil de seguridad, incluyendo tanto las toxicidades agudas como las acumulativas, y determinar la dosis máxima tolerada del agente único epotilona B administrado mediante infusión intravenosa una vez cada tres semanas a pacientes adultos con tumores sólidos avanzados que han fracasado con la terapia sistémica estándar o para los cuales la terapia sistémica estándar no existe.

*Secundario:*

65 1. Caracterizar la farmacocinética del agente único epotilona B administrado mediante infusión intravenosa una vez cada tres semanas a esta población de pacientes; los datos obtenidos se utilizan en conjunto con los datos farmacodinámicos para realizar las correlaciones farmacocinéticas/farmacodinámicas (PK/PD) que ayudan a pronosticar la seguridad y la eficacia.

## ES 2 354 193 T3

2. Obtener la evidencia preliminar de actividad antitumoral del agente único epotilona B administrado mediante infusión intravenosa una vez cada tres semanas a esta población de pacientes.
3. Correlacionar los niveles de fármaco intratumoral entre los pacientes adultos con tumores sólidos avanzados que reciben agente único epotilona B mediante infusión intravenosa una vez cada tres semanas, con aquellos asociados con la eficacia en los modelos preclínicos.
4. Recabar información sobre los tumores a partir de las muestras de biopsias del tumor donde estén disponibles y accesibles pre y post terapia a fin de identificar los factores biológicos que se correlacionan con la eficacia y la respuesta.

*Diseño:* Este es un estudio de incremento gradual de la dosis de diseño abierto para evaluar la seguridad, farmacocinética, y la farmacodinámica de la epotilona B administrada mediante infusión intravenosa una vez cada tres semanas a pacientes adultos con tumores sólidos avanzados que han fracasado con la terapia sistémica estándar o para los cuales no existe terapia sistémica estándar.

El período de tratamiento consiste en hasta seis ciclos de 21 días. Se discontinúa prematuramente a los pacientes que experimentan toxicidad inaceptable o progresión de la enfermedad. Los pacientes que alcanzan una respuesta completa o parcial, o los pacientes con enfermedad estable al final de los seis ciclos continúan con un tratamiento adicional de acuerdo con un protocolo de extensión a discreción del investigador y después de la aprobación del patrocinador. Los pacientes elegibles reciben ciclos adicionales hasta que se observa una progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable.

En la ausencia de toxicidad límite de dosis (DLT), el incremento gradual de la dosis procede de la siguiente forma:

1. Primer incremento gradual de dosis: incremento de dosis del 100% (a menos que se identifique una toxicidad grado 2 en la primera cohorte, en cuyo caso el incremento gradual de dosis es del 25%-67%).
2. Los incrementos graduales de dosis siguientes al incremento gradual de dosis del 100% de la primera a la segunda cohorte: incrementos graduales de dosis del 67% hasta que se identifica toxicidad grado 2.
3. Los incrementos graduales de dosis finales siguientes a la identificación de una toxicidad grado 2: incrementos graduales de dosis del 25%-67%, en base al consenso alcanzado entre los investigadores y el patrocinador.

El incremento gradual de dosis se basa en las toxicidades a partir del primer ciclo para cada cohorte de pacientes. La dosis máxima tolerada (MTD) provisional se define como el nivel de dosis inmediatamente por debajo de aquel en el cual la DLT se observa en por lo menos dos de los 3-6 pacientes. La cohorte definida como la MTD provisional después ingresa a pacientes adicionales hasta un total de 12 para confirmar la MTD mediante la evaluación adicional de los perfiles de seguridad, farmacocinética, y farmacodinámica de la epotilona B.

No se permitirá el incremento gradual de dosis intrapaciente.

Todas las toxicidades se definen de acuerdo con los Criterios de Toxicidad Común Revisados del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos. Las DLTs se definen en el protocolo; en general, sin embargo, la naturaleza de una DLT es tal que se considera inaceptable incluso ante la presencia de un tumor sólido incurable.

### *Pacientes*

#### *Criterios de Inclusión*

Los siguientes criterios deben ser cumplidos para la inclusión en el estudio:

1. Pacientes de sexo masculino o femenino  $\geq 18$  años de edad.
2. Tumor sólido avanzado histológicamente documentado, que haya fracasado con la terapia sistémica estándar y hasta 1 terapia sistémica adicional, o para el cual no exista terapia sistémica estándar.
3. Por lo menos un sitio medible, evaluable, o no evaluable de enfermedad como lo definen los Criterios de Respuesta del Tumor Sólido del Southwestern Oncology Group (SWOG) incluyendo el valor marcador del tumor que se encuentra por encima del límite superior normal institucional.
4. Las mujeres con potencial de procreación deben tener una prueba de embarazo  $\beta$ -HCG en suero negativa antes del comienzo del fármaco de estudio. Los pacientes de sexo masculino y femenino con potencial de procreación deben aceptar el empleo de un método efectivo de control de natalidad a lo largo del estudio y por hasta 3 meses después de la discontinuación del fármaco del estudio.

## ES 2 354 193 T3

5. Una calificación de  $\leq 2$  en el Estado de Desempeño de la Organización Mundial de la Salud (OMS).
6. Expectativa de vida de por lo menos 3 meses.
7. Se obtiene consentimiento por escrito informado antes de cualquier procedimiento de selección.

### *Criterios de Exclusión*

Se requiere la exclusión del estudio si cualquiera de los siguientes puntos aplican:

1. Pacientes de sexo femenino que están embarazadas o amamantando. Las mujeres posmenopáusicas deben tener amenorrea por por lo menos 12 meses para ser consideradas sin potencial de procreación.
2. El paciente tiene una enfermedad médica no controlada y/o grave (es decir, diabetes, insuficiencia cardiaca congestiva, infarto agudo de miocardio no controlados dentro de los 6 meses del estudio, enfermedad renal crónica, o infección activa no controlada).
3. El paciente tiene una metástasis cerebral conocida.
4. El paciente tiene una enfermedad de hígado crónica conocida o aguda (es decir, hepatitis activa crónica, cirrosis).
5. El paciente tienen un diagnóstico conocido de infección con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH).
6. El paciente ha recibido cualquier agente de investigación dentro de los 30 días anteriores al ingreso en el estudio.
7. El paciente recibió quimioterapia dentro de las 4 semanas (6 semanas para nitrosoureas o mitomicina C) anteriores al ingreso al estudio.
8. El paciente recibió terapia de irradiación anteriormente dentro de las 4 semanas anteriores al ingreso al estudio.
9. El paciente recibió previamente radioterapia al  $\geq 25\%$  de la médula ósea.
10. El paciente tuvo una cirugía mayor dentro de las 2 semanas anteriores al ingreso al estudio.
11. El paciente tiene un historial de incumplimiento de los regímenes médicos.
12. El paciente tiene insuficiencia de la función hepática, renal o hematológica como se define mediante los siguientes parámetros de laboratorio:
  - Recuento de plaquetas  $< 100 \times 10^9/L$
  - Recuento absoluto de neutrófilos (ANC)  $< 1,5 \times 10^9/L$
  - Suero ALT (SGPT) o AST (SGOT)  $> 2,5 \times$  límite superior normal institucional (IULN) ( $>5 \times$  IULN para pacientes con metástasis hepática)
  - Bilirrubina total en suero  $> 1,5 \times$  IULN
  - Creatinina del suero  $> 1,5 \times$  IULN
13. El paciente no ha tenido otra neoplasia primaria durante los últimos 5 años; sin embargo, el cáncer de piel no melanomatoso y el carcinoma cervical *in situ* están excluidos sólo si el paciente tiene enfermedad activa.

*Tamaño de la muestra:* Este estudio requiere aproximadamente 40 pacientes.

*Tratamientos:* La Epotilona B se suministra en ampollitas de vidrio individuales de 2 ml formuladas como 1 mg/1 ml del concentrado intravenoso incoloro claro. La sustancia se formula en glicol de polietileno 300 (PEG300) y se diluye con 50 ó 100 ml de Inyección de Cloruro de Sodio al 0,9%, USP, para alcanzar la concentración final deseada del fármaco para infusión. Se administra como una infusión intravenosa única de 30 minutos cada 21 días por seis ciclos.

## ES 2 354 193 T3

El nivel de la dosis inicial es 0,3 mg/m<sup>2</sup>. Esta dosis se calcula como un tercio de la dosis tóxica mínima (TDL) en la especie más sensible estudiada que, para la epotilona B, es el perro. Dado que no hay mortalidad en el mínimo de las 2 dosis administradas a perros en el estudio de toxicología GLP, 0,1 mg/kg, repetida una vez 3 semanas después, se estima que la TDL se encuentra en el rango de 0,05 mg/kg. Mediante la utilización de un factor de 20 para convertir mg/kg en el perro a mg/m<sup>2</sup> en humanos, esta dosis inicial se calcula como:

$$1/3 \times 0,05 \text{ mg/kg} \times 20 \text{ kg/m}^2 = 0,3 \text{ mg/m}^2$$

El incremento gradual de dosis se realiza de acuerdo con el esquema antes indicado.

El estudio define demoras en el tratamiento, reducciones de dosis, o la retirada del tratamiento para los individuos que experimentan toxicidad hematológica o de otro tipo que se sabe que son producidas por la epotilona B. El tratamiento continúa hasta un máximo de 6 ciclos a menos que el paciente experimente progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable. Al final de los 6 ciclos, los pacientes que han alcanzado una respuesta completa o parcial y los pacientes que han tenido una enfermedad estable pueden continuar con un tratamiento adicional de acuerdo con un protocolo de extensión a discreción del investigador y después de la aprobación del patrocinador.

*Variables de Seguridad:* La seguridad de la epotilona B se evalúa mediante el examen físico y la evaluación de signos vitales, resultados de laboratorio clínico, acontecimientos adversos, y utilización de medicaciones concomitantes. Los acontecimientos adversos son tanto obtenidos como ofrecidos voluntariamente y se clasifican utilizando los Criterios de Toxicidad Común Revisados del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos.

*Variables de Eficacia:* Aunque este estudio de fase 1 no está diseñado para detectar la eficacia, la actividad se demuestra como una función del índice de respuesta tumoral objetiva y la duración de la supervivencia libre de progresión y general. Las evaluaciones tumorales de referencia incluyen la evaluación óptima de todas las enfermedades medibles, evaluables, y no evaluables. Las evaluaciones incluyen el examen físico y el roentgenograma de pecho y, si corresponde, tomografía computarizada de tórax, abdomen y pelvis; sonograma del abdomen y pelvis; escintigrafía de hueso, con roentgenograma de hueso para todas las lesiones óseas conocidas; y determinación de los valores indicadores de tumor. Los estudios de seguimiento se obtienen cada 6 semanas y después del cese del tratamiento.

El estado objetivo se evalúa clínicamente utilizando las pautas Novartis, que se basan en los criterios de respuesta del SWOG. Todas las respuestas completas y parciales deben ser confirmadas mediante una segunda evaluación por lo menos cuatro semanas más tarde. La mejor respuesta tumoral se calcula para cada paciente utilizando los criterios de respuesta del SWOG.

*Farmacocinética:* Los siguientes parámetros farmacocinéticos se calculan y se analizan para los ciclos 1 y 2:  $t_{\max}$ ,  $C_{\max}$ ,  $\lambda_z$ ,  $t_{1/2}$ , AUC, y  $R_A$ .  $R_A = \text{la proporción de } AUC_{\tau_{\text{ciclo}2}}/AUC_{\tau_{\text{ciclo}1}}$  se evalúa como un índice de acumulación. La evaluación preliminar de la proporcionalidad de dosis se basa en el AUC a partir de la última dosis entre diferentes grupos de dosis. Las correlaciones PK/PD con toxicidades observadas (por ejemplo, hematopoyética) se realizan como un indicador de seguridad.

*Farmacodinámica:* Las muestras de biopsia del tumor se obtienen donde sean factibles y accesibles pre-terapia y después del primer ciclo de terapia a fin de identificar los factores biológicos que se correlacionan con la eficacia y la respuesta.

*Métodos Estadísticos:* Los pacientes con acontecimientos clínicos adversos que emergen durante el tratamiento (especialmente aquellos con toxicidad límite de dosis) o con anomalías en los resultados de laboratorio, en los signos vitales, en examen físico (recién aparecidas o que han empeorado a partir de los valores de referencia) se identifican y se resaltan los valores. El índice de anomalía se tabula por cohorte. Los índices de respuesta objetiva (incluyendo tanto las respuestas completas como parciales) se presentan por cohorte. Se utiliza la estadística descriptiva para resumir los parámetros farmacocinéticos básicos por cohorte.

*Discusión:* Tomados en conjunto, los ejemplos proporcionan evidencia de que el tratamiento con epotilona B es efectivo:

- a) también contra un tumor donde el tratamiento estándar fracasa, por ejemplo en el tumor de colon donde fracasa el tratamiento con 5-fluorouracilo, o donde fracasa el tratamiento con TAXOL<sup>®</sup>;
- b) también contra un tumor donde el tratamiento con TAXOL<sup>®</sup> fracasa, por ejemplo, cáncer de pulmón, especialmente de células no pequeñas, y/o cáncer epidermoide, especialmente cervical;
- c) también contra los tumores ortotópicos y la formación de metástasis, por ejemplo, en tumores de próstata;
- d) también contra el cáncer de mama donde en las pruebas *in vitro* (ejemplo 3) la epotilona muestra mayor actividad que el TAXOL<sup>®</sup>.

## ES 2 354 193 T3

Los regímenes de dosis preferentes se centran alrededor de un área de tratamiento semanal con aproximadamente  $1/3$  a  $2/3$  de la MTD hasta un tratamiento una vez con una dosis de hasta la MTD, con un tipo de mejor área de tratamiento que se ubica en la administración semanal hasta la administración de una vez cada tres semanas.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Utilización de epotilona B para la elaboración de una preparación farmacéutica para la utilización en el tratamiento de una enfermedad proliferativa en donde la epotilona B se utiliza en una dosis en humanos que se calcula de acuerdo con la fórmula (I)

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } y) \times N \quad \text{(I)}$$

donde N es el número de semanas entre tratamientos e y es 6.

2. La utilización de acuerdo con la reivindicación 1 donde la epotilona B se utiliza en una dosis en humanos que se calcula de acuerdo con la fórmula II

$$\text{dosis única (mg/m}^2\text{)} = (0,1 \text{ a } 2,5) \times N \quad \text{(II).}$$

3. La utilización de acuerdo con la reivindicación 1 donde la epotilona B se utiliza semanalmente en una dosis que se encuentra entre 0,1 y 6 mg/m<sup>2</sup>.

4. La utilización de acuerdo con la reivindicación 1 donde la epotilona B se utiliza cada tercer semana en una dosis que se encuentra entre 0,3 y 18 mg/m<sup>2</sup>.

5. La utilización de acuerdo con la reivindicación 2 donde la epotilona B se utiliza cada tercer semana en una dosis que se encuentra entre 0,3 y 7,5 mg/m<sup>2</sup>.

6. Utilización de la epotilona B para la elaboración de una preparación farmacéutica para la utilización en el tratamiento de una enfermedad proliferativa en donde la epotilona se utiliza en humanos cada semana en una dosis entre 0,3 y 1 mg/m<sup>2</sup>.

7. La utilización de acuerdo con la reivindicación 1 donde la epotilona B se administra mediante infusión intravenosa.

8. La utilización de acuerdo con la reivindicación 1 donde cada infusión se realiza durante de 5 a 30 minutos.

9. La utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en donde la enfermedad proliferativa es refractaria al tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos que no sean una epotilona, donde la epotilona B se administra a un humano que necesita tal tratamiento en una dosis que es apropiada para el tratamiento de dicha enfermedad.

10. La utilización de acuerdo con la reivindicación 9 donde el tumor refractario que va a ser tratado se selecciona entre el grupo que consiste en tumores de pulmón, colorectales, de próstata, de mama o epidermoides de cabeza o cuello.

11. La utilización de acuerdo con la reivindicación 10 en donde el tumor que va a ser tratado es un tumor colorectal que es refractario a por lo menos un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos.

12. La utilización de acuerdo con la reivindicación 11 en donde el tumor colorectal que va a ser tratado es además refractario a por lo menos otro agente quimioterapéutico estándar.

13. La utilización de acuerdo con la reivindicación 10 donde el tumor que va a ser tratado es un tumor colorectal que es refractario al tratamiento con TAXOL y 5-fluorouracilo.

14. La utilización de acuerdo con la reivindicación 10 donde el tumor que va a ser tratado es un tumor de próstata, y/o cualquier metástasis de éste, refractaria al tratamiento con hormonas.

15. La utilización de acuerdo con la reivindicación 10 donde el tumor que va a ser tratado es un tumor epidermoide de cabeza o cuello que es refractario al tratamiento con por lo menos otro agente quimioterapéutico.

16. La utilización de acuerdo con la reivindicación 15 donde el tumor epidermoide de cabeza y cuello es refractario al tratamiento con TAXOL.

17. La utilización de acuerdo con la reivindicación 10, donde el tumor que va a ser tratado es un tumor de pulmón que es refractario al tratamiento con por lo menos otro agente quimioterapéutico.

## ES 2 354 193 T3

18. La utilización de acuerdo con la reivindicación 17 donde el tumor que va a ser tratado es un cáncer de pulmón de células no pequeñas.

5 19. La utilización de acuerdo con la reivindicación 18 donde el tumor de pulmón de células no pequeñas es refractario al tratamiento con un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos.

20. La utilización de acuerdo con la reivindicación 19 donde el cáncer de pulmón de células no pequeñas es refractario al tratamiento con TAXOL.

10 21. La utilización de acuerdo con la reivindicación 10 donde el tumor que va a ser tratado es un tumor de mama.

22. La utilización de acuerdo con la reivindicación 21 donde el tumor de mama es refractario al tratamiento con por lo menos un miembro de la clase del taxano de los agentes anticancerosos.

15 23. La utilización de acuerdo con la reivindicación 10 en donde el tumor que va a ser tratado es un tumor colorectal que es refractario a la quimioterapia estándar.

20 24. La utilización de acuerdo con la reivindicación 10 donde el tumor que va a ser tratado es un tumor epidermoide de cabeza o cuello que es refractario al tratamiento con por lo menos otro agente quimioterapéutico debido a la resistencia a múltiples fármacos.

25 25. La utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 donde la enfermedad proliferativa que va a ser tratada se selecciona entre el grupo que consiste en un tumor colorectal, un tumor del tracto genitourinario, un tumor epidermoide, un tumor de pulmón y un tumor de mama.

26. La utilización de acuerdo con la reivindicación 25 donde la enfermedad proliferativa que va a ser tratada es un tumor de próstata.

30 27. La utilización de acuerdo con la reivindicación 25 donde la enfermedad proliferativa es un tumor epidermoide de cabeza o cuello.

28. La utilización de acuerdo con la reivindicación 25 donde la enfermedad proliferativa es un tumor de pulmón de células no pequeñas.

35 29. La utilización de acuerdo con la reivindicación 25 donde la enfermedad proliferativa es un tumor de mama.

30. La utilización de la epotilona B para la elaboración de una preparación farmacéutica; de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 donde la enfermedad proliferativa que va a ser tratada es un tumor resistente a múltiples fármacos.

40 31. La utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 donde la enfermedad proliferativa que va a ser tratada se selecciona entre el grupo que consiste en un melanoma, un cáncer de ovarios, un cáncer de páncreas, un neuroblastoma, un cáncer de cabeza o cuello, un cáncer de vejiga, un cáncer renal, un cáncer de cerebro y un cáncer gástrico.

45 32. La utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 31, que además comprende el paso de administrar (a) epotilona B en combinación con (b) otro agente terapéutico antitumoral, siendo el tratamiento combinado previsto de modo que el componente (a) y el componente (b) se administran a un humano que necesita tal tratamiento en combinación y en la cantidad que es terapéuticamente efectiva en conjunto contra dicha enfermedad proliferativa.

50 33. La utilización de acuerdo con la reivindicación 1, donde la enfermedad proliferativa es un tumor que es refractario al tratamiento con un agente anticanceroso de la clase del taxano, siendo dicho tumor seleccionado entre el grupo que consiste en un tumor colorectal, un tumor prostático, un tumor pancreático y un tumor cerebral.

55 34. La utilización de acuerdo con la reivindicación 1 donde la enfermedad proliferativa es un carcinoma de pulmón de células no pequeñas resistente a múltiples fármacos, un tumor de mama resistente a múltiples fármacos, o un tumor epidermoide de cabeza y cuello resistente a múltiples fármacos.

60

65