

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 987 989**

51 Int. Cl.:

A61K 31/513 (2006.01)
A61K 31/4412 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61K 31/685 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.02.2017** **PCT/SE2017/050186**
87 Fecha y número de publicación internacional: **08.09.2017** **WO17151044**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2017** **E 17760400 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2024** **EP 3423061**

54 Título: **Terapia combinada con sorafenib o regorafenib y un profármaco de fosforamidato de troxacitabina**

30 Prioridad:

02.03.2016 SE 1650274
08.09.2016 SE 1651204

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.11.2024

73 Titular/es:

MEDIVIR AKTIEBOLAG (100.0%)
P.O. Box 1086
141 22 Huddinge, SE

72 Inventor/es:

ALBERTELLA, MARK;
ENEROTH, ANDERS;
KLASSON, BJÖRN;
ÖBERG, FREDRIK y
ÖHD, JOHN

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 987 989 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

Terapia combinada con sorafenib o regorafenib y un profármaco de fosforamidato de troxacitabina

5 Campo de la invención

La invención se refiere a una terapia combinada para el cáncer, y más específicamente, a una terapia combinada de profármacos sorafenib-fosforamidato de troxacitabina y a una terapia combinada de profármacos regorafenib-fosforamidato de troxacitabina para el cáncer y las metástasis de hígado.

10

Antecedentes de la invención

El cáncer de hígado (o cáncer hepático) es un cáncer que se origina en el hígado. El cáncer primario de hígado es el quinto tipo de cáncer más frecuente a nivel mundial y la segunda causa principal de muerte por cáncer. Los cánceres de hígado son tumores malignos que crecen en la superficie o dentro del hígado. Se forman a partir del propio hígado o de estructuras dentro del hígado, incluidos los vasos sanguíneos o el conducto biliar.

15

La principal causa de cáncer de hígado es la infección vírica por el virus de la hepatitis B o el virus de la hepatitis C. El cáncer generalmente se forma de manera secundaria a la cirrosis causada por estos virus. Por esta razón, las tasas más altas de cáncer de hígado se dan donde estos virus son endémicos, incluido el este de Asia y el África subsahariana. Los cánceres de hígado no deben confundirse con las metástasis de hígado, también conocidas como cáncer de hígado secundario, que es un cáncer que se origina en órganos de otras partes del cuerpo y migra al hígado.

20

El cáncer de hígado más frecuente, que representa aproximadamente el 75 % de todos los cánceres de hígado primarios, es el carcinoma hepatocelular (CHC). El CHC es un cáncer formado por células del hígado, conocidas como hepatocitos, que se vuelven malignas. Otro tipo de cáncer formado por células hepáticas es el hepatoblastoma, que se forma específicamente por células inmaduras del hígado. Es un tumor maligno raro que se desarrolla principalmente en menores, y representa aproximadamente el 1 % de todos los cánceres en menores y el 79 % de todos los cánceres de hígado primarios en menores de 15 años.

30

El cáncer de hígado puede formarse también a partir de otras estructuras dentro del hígado tales como el conducto biliar, los vasos sanguíneos y las células inmunitarias. El cáncer de los conductos biliares (colangiocarcinoma y cistadenocarcinoma colangiocelular) representan alrededor del 6 % de los cánceres de hígado primarios. También existe un tipo variante de CHC que consiste tanto en CHC como en colangiocarcinoma. Los tumores de los vasos sanguíneos del hígado incluyen el angiosarcoma y el hemangioendoteloma. El sarcoma embrionario y el fibrosarcoma se producen a partir de un tipo de tejido conjuntivo conocido como mesénquima. Los cánceres producidos a partir del músculo del hígado son el leiomiomasarcoma y el rabdomiosarcoma. Otros cánceres de hígado menos comunes incluyen carcinosarcomas, teratomas, tumores del saco vitelino, tumores carcinoides y linfomas. Los linfomas suelen tener una infiltración difusa hacia el hígado, aunque en raras ocasiones también pueden formar una masa de hígado.

35

40

La resección quirúrgica es a menudo el tratamiento de elección para los hígados no cirróticos. La resección de hígados cirróticos puede aumentar el riesgo de complicaciones como insuficiencia hepática. Las tasas de supervivencia a 5 años después de la resección han mejorado enormemente en las últimas décadas y ahora pueden superar el 50 %. Las tasas de recurrencia después de la resección debido a la propagación del tumor inicial o la formación de nuevos tumores superan el 70 %. El trasplante de hígado también se puede usar en casos de CHC donde esta forma de tratamiento puede tolerarse y el tumor se ajusta a criterios específicos (por ejemplo, los criterios de Milán). Menos del 30 % al 40 % de los individuos con CHC son elegibles para cirugía y trasplante porque el cáncer a menudo se detecta en una etapa avanzada. También, el CHC puede progresar durante el tiempo de espera para un trasplante de hígado, lo que en última instancia puede impedir el trasplante.

45

50

La ablación percutánea es el único tratamiento no quirúrgico que puede ofrecer cura. Existen muchas formas de ablación percutánea, que consisten en inyectar sustancias químicas en el hígado (etanol o ácido acético) o producir temperaturas extremas mediante ablación por radiofrecuencia, microondas, láser o crioterapia. De estas, la ablación por radiofrecuencia tiene una de las mejores reputaciones en el CHC, pero las limitaciones incluyen la incapacidad de tratar tumores cercanos a otros órganos y vasos sanguíneos debido a la generación de calor y al efecto de sincronización de calor, respectivamente.

55

60

Los agentes quimioterapéuticos sistémicos no se usan rutinariamente en el CHC, aunque se puede usar quimioterapia local en un procedimiento conocido como quimioembolización transarterial (TACE). En este procedimiento se administran fármacos citotóxicos como doxorubicina o cisplatino con lipiodol y se bloquean las arterias que irrigan el hígado con una esponja de gelatina u otras partículas. Debido a que la mayoría de los fármacos sistémicos no tienen eficacia en el tratamiento del CHC, la investigación de las vías moleculares implicadas en la producción de cáncer de hígado produjo sorafenib, un medicamento de terapia dirigida que

65

previene la proliferación celular y el crecimiento de células sanguíneas en algunas circunstancias. En investigaciones posteriores se produjo el análogo fluorado del sorafenib, regorafenib. Regorafenib es un fármaco de terapia dirigida que es un inhibidor de la tirosina cinasa del receptor oral que bloquea una vía importante que promueve la división celular.

5

La radioterapia no se usa con frecuencia en el CHC porque el hígado no tolera la radiación. Incluso con tecnología moderna que proporciona radiación bien dirigida a áreas específicas del hígado, el daño colateral al tejido circundante del hígado es un problema, lo que enfatiza la necesidad de mejores regímenes que «preserven el hígado». Los tratamientos duales de radioterapia más quimioembolización, quimioterapia local, quimioterapia sistémica o fármacos de terapia dirigida pueden mostrar beneficios sobre la radioterapia sola.

10

Sorafenib (comercializado como NEXAVAR®), es un fármaco aprobado por la FDA para pacientes con cáncer de hígado primario avanzado. Es una molécula pequeña que interactúa con múltiples cinasas intracelulares y de superficie celular, incluida la vía Raf/Mek/Erk. Al inhibir estas cinasas, se inhibe la transcripción genética que implica la proliferación celular y la angiogénesis, con la interesante observación de que la hipoxia en los tejidos tumorales sólidos puede aumentar debido a que el tratamiento reduce el suministro de sangre al tumor.

15

Sin embargo, incluso con el desarrollo de fármacos como el sorafenib, las opciones de tratamiento actuales para el cáncer de hígado son insuficientes debido a su eficacia limitada y su grave toxicidad.

20

Regorafenib (comercializado como STIVARGA®), es un fármaco aprobado por la FDA para pacientes con cáncer colorrectal metastásico que fracasaron con los tratamientos estándar y para pacientes con tumores del estroma gastrointestinal (GIST) avanzados que no se pueden extirpar quirúrgicamente y ya no responden a otros tratamientos aprobados por la FDA para esta enfermedad. Regorafenib también ha mostrado resultados positivos en términos de tiempo hasta la progresión (TTP) y supervivencia general (OS) en un ensayo clínico de fase II como fármaco de segunda línea para pacientes con cáncer de hígado que progresan después del tratamiento con sorafenib.

25

La troxacitabina, (beta-L-dioxolano citidina) es un análogo de la desoxicitidina citotóxica con una configuración L poco natural que ha demostrado una amplia actividad contra ambas neoplasias, sólida y hematopoyética, *in vitro* e *in vivo*. En particular, la impresionante actividad se ha observado frente a estirpes celulares de cáncer en seres humanos y xenoinjertos de origen hepatocelular, prostático y renal (*Cancer Res.*, 55, 3008-3011, 1995). La troxacitabina ha demostrado dar lugar a una mutación de la cinasa desoxicitidina cinasa (dCK) que normalmente es responsable del primer paso de fosforilación del nucleósido, que conduce a ningún nivel o a niveles muy bajos de monofosfato de troxacitabina, lo que conduce a resistencia.

30

La troxacitabina entró en ensayos clínicos de fase III en 2008 en la indicación de leucemia mielógena aguda, pero no se procedió a registro. Los ensayos interrumpidos en la fase II con troxacitabina incluyen cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, melanoma, NSCLC, tumores renal, de próstata y de ovario. La troxacitabina era administrada generalmente como una perfusión intravenosa, exponiendo de este modo muchos tejidos al fármaco, con independencia del sitio del cáncer. Se cree que se ha abandonado el desarrollo clínico de troxacitabina.

40

En WO2005009961: un compuesto de Fórmula (I): (I) sales de este, profármacos de este, metabolitos de este, composiciones farmacéuticas que contienen dicho compuesto y uso de dicho compuesto y composiciones para tratar enfermedades mediadas por raf, VEGFR, PDGFR, p38 y flt-3.

45

En WO2016030335 se proporcionan compuestos de fórmula (I), en donde: R¹ es OR¹¹, o NR⁵R^{5'}; R² es H o F; R⁵ es H, alquilo C₁-C₆, OH, C(=O)R⁶, O(C=O)R⁶ u O(C=O)OR⁶; R^{5'} es H o alquilo C₁-C₆; R⁶ es alquilo C₁-C₆ o cicloalquilo C₃-C₇; R¹³ es H, fenilo, piridilo, bencilo, indolilo o naftilo en donde el fenilo, piridilo, bencilo, indolilo y naftilo está opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 R²²; y las demás variables son las definidas en las reivindicaciones, que son de uso en el tratamiento del cáncer y aspectos relacionados.

50

Llovet J. M. et al, *N Engl J Med* 2008; 359:378-390, DOI: 10.1056/NEJMoa0708857 se relaciona con sorafenib en carcinoma hepatocelular avanzado.

55

Carlson R. H. , *Oncology Times* 38(16):p 27, 25 de agosto de 2016, DOI: 10.1097/01.COT.0000494623.19371.ce se relaciona con regorafenib para el cáncer de hígado irreseccable.

60

Sumario de la invención

La invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento de que ciertas combinaciones de sorafenib y profármacos de fosforamidato específicos de troxacitabina son particularmente eficaces para inhibir y prevenir la proliferación de células de cáncer de hígado. Este descubrimiento puede describirse como una sinergia, o un efecto mayor que aditivo, que es específico del sorafenib y estos profármacos de fosforamidato de troxacitabina, dentro del área del cáncer de hígado (por ejemplo, CHC). Nuestra hipótesis es que esta

65

interacción beneficiosa podría incluso extenderse al tratamiento de metástasis de hígado.

Cualquier referencia en la descripción a un método de tratamiento corporal de un ser humano (o animal) por terapia (o para diagnóstico) para usar en un tratamiento, a una terapia se debe entender que se refiere a los compuestos, las composiciones farmacéuticas o las combinaciones de la presente invención para su uso en dicho método.

Sin querer limitarnos a la teoría, planteamos además la hipótesis de que la actividad antioncogénica inesperadamente profunda de la combinación de sorafenib y los profármacos de fosforamidato específicos de troxacitabina, podría mejorarse aún más porque la hipoxia local en los tejidos hepáticos generada por sorafenib mejoraría la activación metabólica del profármaco de troxacitabina a su trifosfato citotóxico.

Un aspecto adicional de la invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento de que ciertas combinaciones de regorafenib y profármacos de fosforamidato específicos de troxacitabina son particularmente eficaces para inhibir y prevenir la proliferación de células de cáncer de hígado. Este descubrimiento puede describirse como una sinergia, o un efecto mayor que aditivo, que es específico del regorafenib y estos profármacos de fosforamidato de troxacitabina, dentro del área del cáncer de hígado (por ejemplo, CHC). Nuestra hipótesis es que esta interacción beneficiosa podría incluso extenderse al tratamiento de metástasis de hígado.

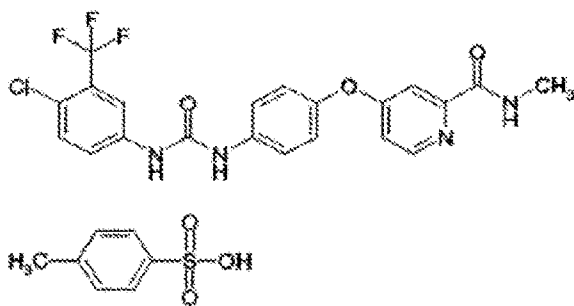
Sin querer limitarnos a la teoría, planteamos además la hipótesis de que la actividad antioncogénica inesperadamente profunda de la combinación de regorafenib y los profármacos de fosforamidato específicos de troxacitabina, podría mejorarse aún más porque la hipoxia local en los tejidos hepáticos generada por regorafenib mejoraría la activación metabólica del profármaco de troxacitabina a su trifosfato citotóxico.

Por consiguiente, la invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento del cáncer de hígado y las metástasis de hígado, mediante las cuales sorafenib y un profármaco de fosforamidato de troxacitabina, como se define en este documento, se administran en combinación a individuos humanos o mamíferos.

Adicionalmente, la invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento del cáncer de hígado y las metástasis de hígado, mediante las cuales regorafenib y un profármaco de fosforamidato de troxacitabina, como se define en este documento, se administran en combinación a individuos humanos o mamíferos.

Sorafenib

La invención, en varios aspectos y realizaciones, incluye el uso de sorafenib (es decir, tosilato de sorafenib, así como otras formas, sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de sorafenib). Sorafenib está disponible comercialmente como NEXAVAR®, que es la sal tosilato de sorafenib. El tosilato de sorafenib tiene el nombre químico 4-metilbencenosulfonato de 4-(4-{3-[4-cloro-3(trifluorometil)fenil]ureido}fenoxi)N-metilpiridin-2-carboxamida y su fórmula estructural es:



El tosilato de sorafenib es un sólido de color de blanco a amarillento o marrón con una fórmula molecular de $C_{21}H_{16}ClF_3N_4O_3 \times C_7H_8O_3S$ y un peso molecular de 637.0 g/mol. El tosilato de sorafenib es prácticamente insoluble en medios acuosos, ligeramente soluble en etanol y soluble en PEG 400. Sorafenib también se describe en las Patentes estadounidenses números 7,235,576, 7,897,623 y 8,124,630.

La dosis y la administración de sorafenib está aprobada para 400 mg (2 comprimidos) por vía oral dos veces al día sin alimentos. Sin embargo, puede ser necesario interrumpir el tratamiento y/o reducir la dosis para controlar las reacciones adversas sospechadas al fármaco. En tales casos, la dosis puede reducirse a 400 mg una vez al día o a 400 mg cada dos días (ver, por ejemplo, la etiqueta de la FDA para los comprimidos orales de NEXAVAR®, aprobación inicial en EE. UU.: 2005). Una persona con conocimientos medios comprenderá que la dosis y la administración de sorafenib pueden seguir pautas médicamente aprobadas, así como desviaciones o alteraciones médicamente aceptadas de dichas pautas. Se proporcionan más descripciones y detalles sobre la dosificación y la administración de sorafenib en la sección Quimioterapia combinada a

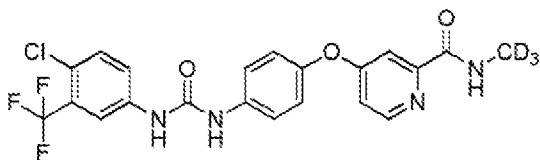
continuación.

La presente invención incluye también compuestos en donde uno o más de los átomos se sustituye por un isótopo de ese átomo, es decir, un átomo que tiene el mismo número atómico, pero una masa atómica diferente de la de los que se encuentran típicamente en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de las invención, incluyen, entre otros, isótopos de hidrógeno, tales como ^2H y ^3H (también denominado D para deuterio y T para tritio, respectivamente), carbono, tales como ^{11}C , ^{13}C y ^{14}C , nitrógeno, tales como ^{13}N y ^{15}N , oxígeno, tales como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , fósforo, tales como ^{31}P y ^{32}P , flúor, tal como ^{18}F , cloro, tal como ^{36}Cl , y bromo, tal como ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br y ^{82}Br . Los compuestos marcados isotópicamente incluyen, por ejemplo, aquellos en donde están presentes isótopos radiactivos, tales como ^3H y ^{14}C , o aquellos en donde están presentes isótopos no radiactivos, tales como ^2H y ^{13}C .

La elección del isótopo incluido en un compuesto que contiene isótopos dependerá de la aplicación específica de ese compuesto. Por ejemplo, para ensayos de distribución tisular de fármacos o sustratos, o en estudios metabólicos generalmente serán los más útiles los compuestos en donde se incorpora un isótopo radiactivo tal como ^3H o ^{14}C . Para aplicaciones con radio-imágenes, por ejemplo, tomografía por emisión de positrones (PET), será útil un isótopo emisor de positrones tal como ^{11}C , ^{18}F , ^{13}N u ^{15}O . La incorporación de un isótopo más pesado, tal como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica a un compuesto de la invención, que puede resultar en, por ejemplo, un aumento de la vida media *in vivo* del compuesto o requisitos de dosificación reducida o una mejora del índice terapéutico.

Compuestos marcados por isótopos de la fórmula I o cualquier subgrupo de fórmula I se pueden preparar generalmente por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o por procedimientos análogos a los descritos en los Esquemas y/o Ejemplos en este documento usando el agente reaccionante o el material de partida apropiado marcado por isótopos en lugar del agente reaccionante o el material de partida correspondiente no marcado por isótopos.

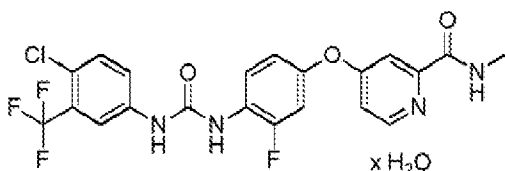
En una realización, la invención incluye omega difenilurea deuterada o sales de esta, y más particularmente a donafenib, 4-(4-(3-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)ureido)fenoxi)-N-1',1'-trideuterometilpicolinamida o sales de esta, es decir, un compuesto que tiene la fórmula estructural:



Donafenib y su síntesis se explican extensamente, por ejemplo, en WO2011/113367 y WO2014/012480.

Regorafenib

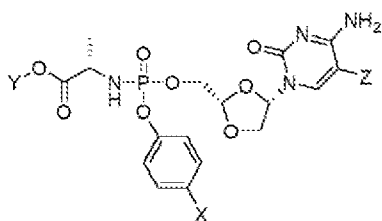
La invención, en varios aspectos y realizaciones, incluye el uso de regorafenib (es decir, regorafenib monohidrato, así como otras formas, sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de regorafenib). Regorafenib está disponible comercialmente como STIVARGA®, que es el monohidrato de regorafenib. El monohidrato de regorafenib tiene como nombre químico 4-[4-({[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]carbamoil}amino)-3-fluorofenoxi]-N-metilpiridin-2-carboxamida monohidrato y su fórmula estructural es:



El monohidrato de regorafenib es un sólido con una fórmula molecular de $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{ClF}_4\text{N}_4\text{O}_3 \times \text{H}_2\text{O}$ y un peso molecular de 500.83 g/mol. El monohidrato de regorafenib es prácticamente insoluble en medios acuosos, ligeramente soluble en acetonitrilo, metanol, etanol y acetato de etilo y escasamente soluble en acetona. Regorafenib también se describe en, entre otros, WO2004/113274, WO2005/000284 y WO2005009961.

Profármacos de fosforamidato de troxacitabina según lo reivindicado

La invención reivindica un profármaco de fosforamidato de troxacitabina con la fórmula:

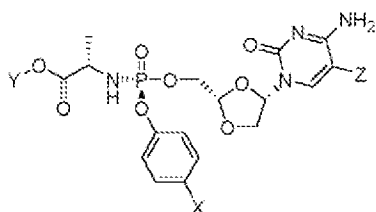


en donde

- 5 a) X es H, Y es 2-propilpentilo y Z es H;
- b) X es H, Y es (S)-pentan-2-ilo y Z es H;
- c) X es Br, Y es (S)-pentan-2-ilo y Z es H;
- 10 d) X es H, Y es (R)-sec-butilo y Z es H;
- e) X es H, Y es 2-etilbutilo y Z es H;
- 15 f) X es ciclopropilo, Y es (S)-pentan-2-ilo y Z es H; o
- g) X es t-butilo, Y es (S)-pentan-2-ilo y Z es H;

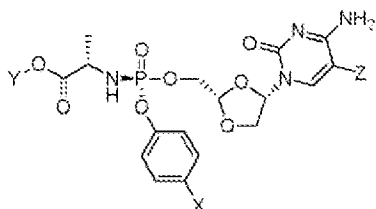
- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para su uso en combinación con un agente terapéutico dirigido que se selecciona entre sorafenib y regorafenib, en el tratamiento del cáncer o metástasis de hígado.

En ciertas realizaciones, el profármaco de fosforamidato de troxacitabina tiene la estereoquímica:



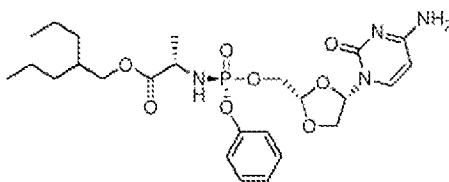
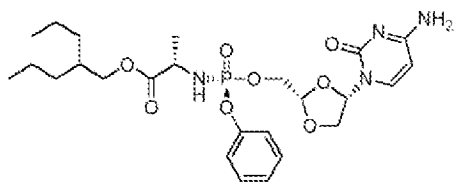
- 25 donde X, Y y Z son como se definieron anteriormente.

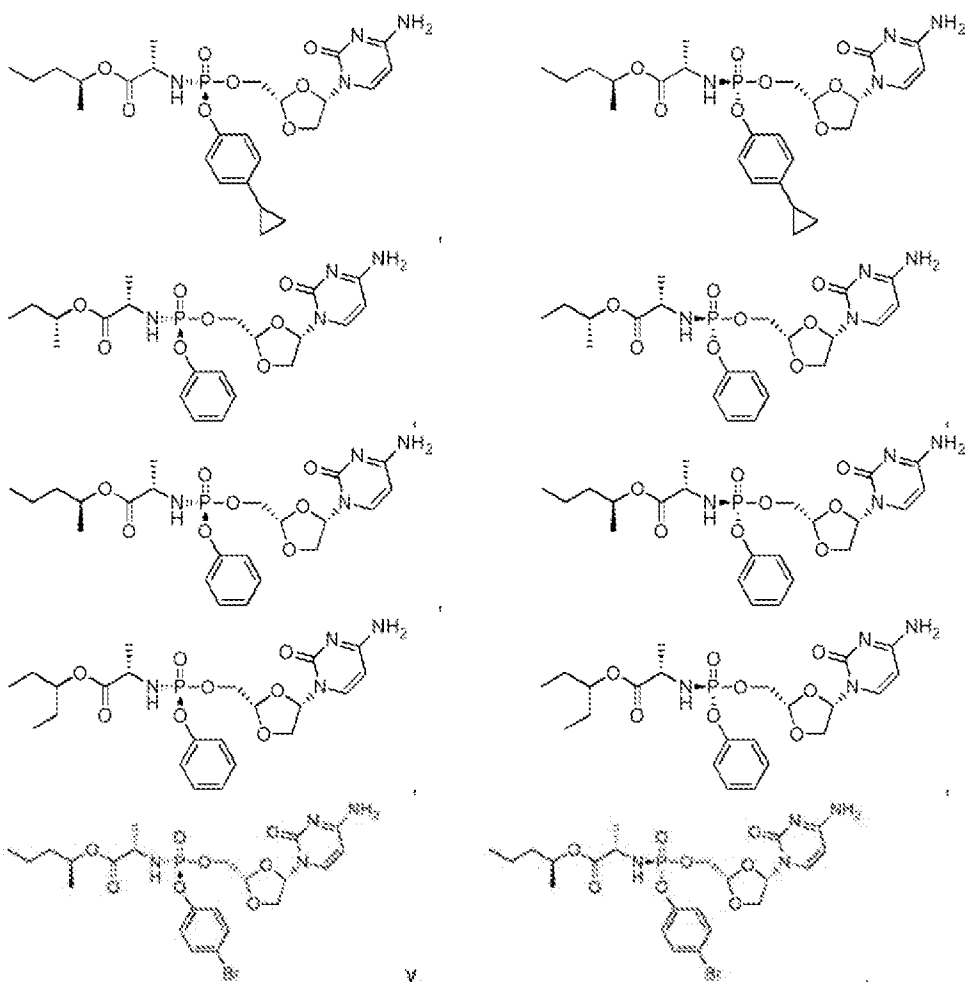
En ciertas realizaciones, el profármaco de fosforamidato de troxacitabina tiene la estereoquímica:



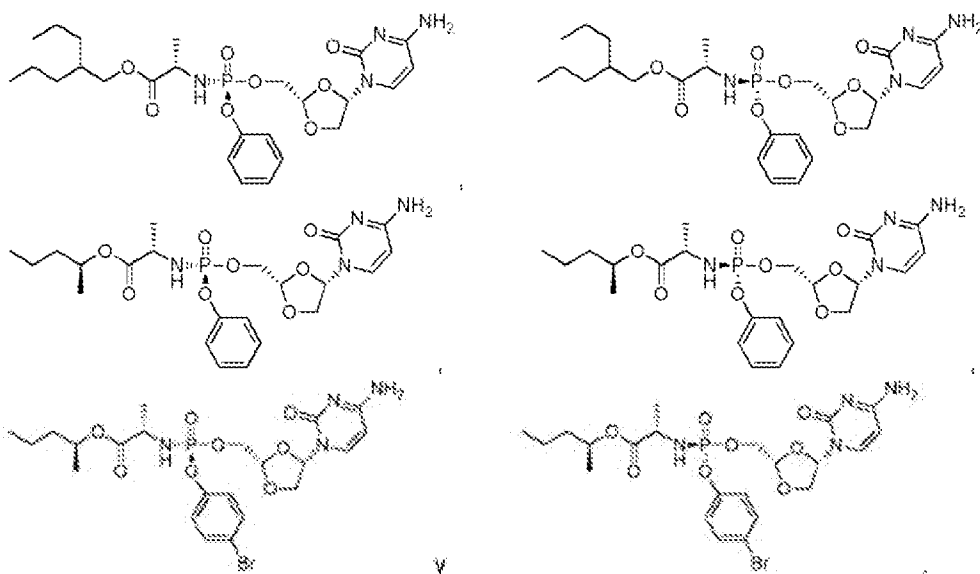
- 30 donde X, Y y Z son como se definieron anteriormente.

- 35 En ciertas realizaciones, el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se selecciona de los compuestos que se muestran a continuación:





En una realización típica, el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se selecciona de los compuestos que se muestran a continuación:



La metodología de síntesis para el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se describe y ejemplifica ampliamente en PCT/EP2015/069370.

Cáncer de hígado

La invención, en varios aspectos y realizaciones, es aplicable al uso definido anteriormente de un profármaco de fosforamidato de troxacitabina en el tratamiento del cáncer de hígado en un sujeto, que puede ser un primate, tal como un ser humano. El sujeto puede ser un mamífero, como, por ejemplo, cualquier mamífero que no sea un ratón. El sujeto puede ser un ser humano adulto (es decir, mayor de 18 años) o un ser humano juvenil (es decir, menor de 18 años).

En diversas realizaciones, el cáncer de hígado (por ejemplo, CHC) no es resistente al sorafenib. Alternativamente, el cáncer de hígado (por ejemplo, CHC) puede tener resistencia primaria o secundaria al sorafenib. El sujeto puede responder al sorafenib en ausencia del profármaco de fosforamidato de troxacitabina. El sujeto puede no responder al sorafenib en ausencia del profármaco de fosforamidato de troxacitabina. En algunas realizaciones, el sujeto se ha sometido a un tratamiento previo con sorafenib que duró al menos 2, 4, 6, 8, 10 meses o más. En otras realizaciones, los sujetos son pacientes que han experimentado uno o más efectos secundarios adversos significativos al sorafenib y, por lo tanto, requieren una reducción de la dosis.

En diversas realizaciones, el cáncer de hígado (por ejemplo, CHC) no es resistente al regorafenib. Alternativamente, el cáncer de hígado (por ejemplo, CHC) puede tener resistencia primaria o secundaria al regorafenib. El sujeto puede responder al regorafenib en ausencia del profármaco de fosforamidato de troxacitabina. El sujeto puede no responder al regorafenib en ausencia del profármaco de fosforamidato de troxacitabina. En algunas realizaciones, el sujeto se ha sometido a un tratamiento previo con regorafenib que duró al menos 2, 4, 6, 8, 10 meses o más. En otras realizaciones, los sujetos son pacientes que han experimentado uno o más efectos secundarios adversos significativos al regorafenib y, por lo tanto, requieren una reducción de la dosis.

En diversas realizaciones, el cáncer de hígado (por ejemplo, CHC) está en etapa intermedia, avanzada o terminal. El cáncer de hígado (por ejemplo, CHC) puede ser metastásico o no metastásico. El cáncer de hígado (por ejemplo, CHC) puede ser resecable o irresecable. El cáncer de hígado (p. ej., CHC) puede comprender un solo tumor, múltiples tumores o un tumor mal definido con un patrón de crecimiento infiltrativo (en las venas porta o las venas hepáticas). El cáncer de hígado (p. ej., CHC) puede comprender un patrón fibrolamelar, pseudoglandular (adenoide), pleomórfico (células gigantes) o de células claras. El cáncer de hígado (por ejemplo, CHC) puede comprender una forma bien diferenciada y las células tumorales se parecen a los hepatocitos, forman trabéculas, cordones y nidos y/o contienen pigmento biliar en el citoplasma. El cáncer de hígado (p. ej., CHC) puede comprender una forma pobremente diferenciada y las células epiteliales malignas son discohesivas, pleomórficas, anaplásicas y/o gigantes. En algunas realizaciones, el cáncer de hígado (por ejemplo, CHC) está asociado con hepatitis B, hepatitis C, cirrosis o diabetes tipo 2.

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que tiene un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ≤ 2 .

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que tiene un funcionamiento aceptable del hígado definido como (i) bilirrubina total < 1.5 veces el límite superior de lo normal (LSN); para pacientes con carcinoma hepatocelular únicamente, bilirrubina total < 3 mg/dl (es decir, la puntuación de Child-Pugh para la bilirrubina no es mayor que 2); (ii) aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (ALP) $< 5 \times$ LSN; o (iii) funcionamiento renal aceptable: creatinina sérica < 1.5 veces el LSN, o aclaramiento de creatinina calculado > 60 ml/min/1.73 m² para pacientes con niveles de creatinina superiores a 1.5 veces el normal institucional.

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que tiene un estado hematológico aceptable definido como (i) recuento absoluto de neutrófilos (RAN) > 1500 células/mm³; (ii) recuento de plaquetas $> 100\,000$ pít/mm³ (sin transfusión); $> 75\,000$ pít/mm³ solo para pacientes con carcinoma hepatocelular; o (iii) hemoglobina > 9 g/dl.

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que tiene un tiempo de protrombina (TP) o relación internacional normalizada (INR, por sus siglas en inglés) $< 1.25 \times$ LSN; INR < 1.7 o tiempo de protrombina (TP) o < 4 segundos por encima del LSN (es decir, la puntuación de Child-Pugh no es mayor que 1 para el parámetro de coagulación); o albúmina sérica > 2.8 g/dl (es decir, la puntuación de Child-Pugh para la albúmina no es mayor que 2).

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que tiene una enfermedad de protrombina Child-Pugh Clase A (puntuación 5-6). La puntuación para encefalopatía hepática debe ser 1; la puntuación para ascitis no debe ser mayor que 2 y ser clínicamente irrelevante; para la determinación de la clase Child-Pugh.

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que no tiene una enfermedad cardíaca de clase III o IV de la New York Heart Association (NYHA), infarto de miocardio en los últimos 6 meses, arritmia inestable y/o sintomática, o evidencia de isquemia en el ECG.

En algunas realizaciones, el sujeto no tiene infecciones bacterianas, víricas o fúngicas activas y no controladas que requieran terapia sistémica.

5 En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que no es una mujer embarazada o lactante.

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que no tiene una infección conocida con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

10 En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que no tiene una enfermedad no maligna grave (por ejemplo, hidronefrosis, insuficiencia del hígado u otras afecciones) que podría comprometer la terapia.

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que no tiene antecedentes recientes de hemorragia y pacientes predispuestos a sufrir hemorragia debido a coagulopatías o anomalías estructurales.

15 En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que no requiere tratamiento con dosis terapéuticas de anticoagulantes de tipo cumarina.

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que no tiene una cirrosis clasificada como Child-Pugh B o C.

20 En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano en donde el sujeto tiene una alfa-fetoproteína (AFP) >10 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml, 200 ng/ml, 300 ng/ml, 400 ng/ml o 500 ng/ml.

25 En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano, en donde el sujeto tiene un nivel elevado (>10 %) de AFP-L3.

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que tiene una protrombina des-gamma-carboxi (anormal) (DCP) >5 ng/ml; 7.5 ng/ml; 10 ng/ml; 25 ng/ml; 50 ng/ml; 75 ng/ml o 100 ng/ml.

30 En algunas realizaciones, el sujeto es un humano que tiene una concentración anormal de un receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (erbB-1), c-erb-2 (Her-2/neu), c-erb-3 (HER-3), c-erb-4 (HER-4), o una combinación de estos. En algunas realizaciones, el sujeto es un humano que tiene una concentración anormal de alfa-fetoproteína (AFP); glipicano-3 (GPC3); des-gamma-carboxi (anormal) protrombina (DCP); gamma-glutamyl transferasa sérica (GGT); alfa-L-fucosidasa (AFU); carbonil reductasa humana 2; fosfoproteína de Golgi 2 (GOLPH2); factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta); factor de crecimiento específico de tumores (TSGF); factor de crecimiento de hepatocitos / factor de dispersión (HGF/SF); factor de crecimiento básico de fibroblastos; ARNm de alfa-fetoproteína (ARNm de AFP); ARNm de gamma-glutamyl transferasa (ARNm de GGT); ARNm del factor de crecimiento similar a la insulina II (IGF-II); ARNm de albúmina; DK 1; proteína de Golgi 73 (GP73); proteína inducida por ausencia de vitamina K o antagonista II (PIVKA-II); miR-122, miR-192, 40 miR-21, miR-223, miR-26a, miR-27a y miR-801, o una combinación de estos.

En diversas realizaciones, cualquiera de los aspectos y las realizaciones se pueden combinar con uno o más de los rasgos siguientes. Por ejemplo: En algunas realizaciones, el cáncer de hígado es cáncer de hígado primario.

45 En algunas realizaciones, el cáncer de hígado es carcinoma hepatocelular (CHC).

En algunas realizaciones, el cáncer de hígado es colangiocarcinoma intrahepático.

50 En algunas realizaciones, la metástasis del hígado se deriva del cáncer colorrectal, pero también del cáncer de mama, cáncer de esófago, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de páncreas y cáncer de estómago.

Quimioterapia combinada

55 Como se usa en este documento, el término «administración en combinación» no se limita a la situación en la que tanto el profármaco sorafenib como el fosforamidato de troxacitabina o el profármaco regorafenib y fosforamidato de troxacitabina se coadministran al ser humano o mamífero en una unidad de dosificación común tal como un comprimido o una suspensión oral, aunque dichas unidades de dosificación comunes pueden tener ventajas en términos de conveniencia de la dosificación, cumplimiento del paciente y precisión de la dosis.

60 Más típicamente, el sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina o el regorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina en unidades de dosificación respectivas, lo que permite al médico prescriptor una mayor libertad de calibración de la dosis. En el caso de sorafenib, los productos disponibles comercialmente actualmente incluyen comprimidos recubiertos con película de Nexavar® 200 mg. En el caso de regorafenib, los productos disponibles comercialmente actualmente incluyen comprimidos recubiertos con

película de Stivarga® 40 mg.

La cantidad y/o el cronograma de dosificación de sorafenib pueden seguir pautas clínicamente aprobadas o experimentales. En diversas realizaciones, la dosis de sorafenib es de 800 mg/día, 600 mg/día, 400 mg/día o 200 mg/día. Una dosis de 200 mg/día puede administrarse como una dosis de 400 mg cada dos días. A los individuos con bajo peso corporal, como los jóvenes y los ancianos, generalmente se les administrarán comprimidos parciales.

La cantidad y/o el cronograma de dosificación de regorafenib pueden seguir pautas clínicamente aprobadas o experimentales. En diversas realizaciones, la dosis de regorafenib es de 640 mg/día, 480 mg/día, 320 mg/día o 160 mg/día. Una dosis de 160 mg/día puede administrarse como una dosis de 320 mg cada dos días. A los individuos con bajo peso corporal, como los jóvenes y los ancianos, generalmente se les administrarán comprimidos parciales.

El profármaco de fosforamidato de troxacitabina generalmente se administrará por vía oral, lo más típicamente como uno o varios comprimidos o cápsulas, conteniendo cada uno entre 10 mg y 600 mg del ingrediente farmacéutico activo. Los comprimidos o cápsulas representativos pueden contener entre 25 mg y 500 mg, o entre 50 mg y 450 mg, o entre 100 mg y 400 mg, como, por ejemplo, entre 150 mg y 400 mg, entre 200 mg y 500 mg o entre 250 mg y 500 mg.

En diversas realizaciones, el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administra al sujeto en 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 dosis diarias durante una sola semana (7 días). El profármaco de fosforamidato de troxacitabina se puede administrar al sujeto en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 dosis diarias durante 14 días. El profármaco de fosforamidato de troxacitabina se puede administrar al sujeto en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 dosis diarias durante 21 días. El profármaco de fosforamidato de troxacitabina se puede administrar al sujeto en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 o 28 dosis diarias durante 28 días.

En diversas realizaciones, el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administra durante 2 semanas (total 14 días); 1 semana con 1 semana de descanso (total 14 días); 3 semanas consecutivas (total 21 días); 2 semanas con 1 semana de descanso (total 21 días); 1 semana con 2 semanas de descanso (total 21 días); 4 semanas consecutivas (total 28 días); 3 semanas consecutivas con 1 semana de descanso (total 28 días); 2 semanas con 2 semanas de descanso (total 28 días); 1 semana con 3 semanas consecutivas de descanso (total 28 días).

En diversas realizaciones, el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administra el día 1 de un ciclo de 7, 14, 21 o 28 días; se administra los días 1 y 15 de un ciclo de 21 o 28 días; se administra los días 1, 8 y 15 de un ciclo de 21 o 28 días; o se administra los días 1, 2, 8 y 15 de un ciclo de 21 o 28 días. El profármaco de fosforamidato de troxacitabina se puede administrar una vez cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 semanas.

El profármaco sorafenib y fosforamidato de troxacitabina se pueden administrar sustancialmente de manera simultánea, como una unidad de dosificación común o una unidad de dosificación respectiva, o la administración en combinación puede ser escalonada o alternada, es decir, con ciclos separados de sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina. Por ejemplo, ciclos seriados de una semana de duración de sorafenib diario pueden intercalarse con ciclos de uno, dos, tres, cinco o siete días de profármaco de fosforamidato de troxacitabina diario.

Como alternativa, se puede iniciar una dosis de carga de un agente, por ejemplo, el componente sorafenib, por ejemplo, para generar hipoxia local en el hígado, seguida del inicio de una dosificación con el profármaco de fosforamidato de troxacitabina.

Puede ser conveniente monitorear la administración de combinación escalonada con referencia a una relación molar o en miligramos objetivo entre sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina. En diversas realizaciones, la relación (por ejemplo, relación molar de sorafenib a profármaco de fosforamidato de troxacitabina) está entre 20:1 y 1:20, tal como 5:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:5 o 1:10.

La relación molar de sorafenib a profármaco de fosforamidato de troxacitabina se puede medir durante diferentes períodos. Por ejemplo, la relación molar puede ser la cantidad de sorafenib a profármaco de fosforamidato de troxacitabina administrada al sujeto en un solo día, una sola semana, 14 días, 21 días o 28 días.

Según ciertas realizaciones, el sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administran cada uno diariamente (como cada día, dos veces al día o tres veces al día) en el mismo día.

En dicha realización, el sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina pueden administrarse conjuntamente en una unidad de dosificación común administrada por vía oral, como una cápsula, una cápsula

de gelatina blanda o un comprimido.

En otras realizaciones, el sorafenib y el profármaco de fosforamido de troxacitabina se administran como unidades de dosificación administradas por vía oral separadas.

5 En una realización representativa del párrafo inmediatamente anterior, la(s) unidad(es) de dosificación de sorafenib y la(s) unidad(es) de dosificación del profármaco de fosforamido de troxacitabina se administran con una diferencia de al menos 6 horas en un día determinado, preferiblemente con una diferencia de al menos 8 horas y típicamente con una diferencia de alrededor de 12 horas, para la comodidad del paciente.

10 En ciertas realizaciones, el sorafenib y el profármaco de fosforamido de troxacitabina se administran alternativamente en ciclos de tratamiento de monoterapia de 1 a 28 días, opcionalmente intercalados con períodos sin tratamiento de 1 a 28 días.

15 Como se usa en este documento, «monoterapia» del sorafenib o del profármaco de fosforamido de troxacitabina significa que el sorafenib no se administra durante un ciclo del profármaco de fosforamido de troxacitabina y viceversa. La monoterapia no excluye la administración conjunta de otros agentes terapéuticos (incluidos otros agentes antineoplásicos o paliativos, todo ello según lo prescriba el médico responsable).

20 El regorafenib y el profármaco de fosforamido de troxacitabina se pueden administrar sustancialmente de manera simultánea, como una unidad de dosificación común o una unidad de dosificación respectiva, o la administración en combinación puede ser escalonada o alternada, es decir, con ciclos separados de sorafenib y el profármaco de fosforamido de troxacitabina. Por ejemplo, ciclos seriados de una semana de duración de regorafenib diario pueden intercalarse con ciclos de uno, dos, tres, cinco o siete días de profármaco de fosforamido de troxacitabina diario.

25 Como alternativa, se puede iniciar una dosis de carga de un agente, por ejemplo, el componente regorafenib, por ejemplo, para generar hipoxia local en el hígado, seguida del inicio de una dosificación con el profármaco de fosforamido de troxacitabina.

30 Puede ser conveniente monitorear la administración de combinación escalonada con referencia a una relación molar o en miligramos objetivo entre regorafenib y el profármaco de fosforamido de troxacitabina. En diversas realizaciones, la relación (por ejemplo, relación molar de regorafenib a profármaco de fosforamido de troxacitabina) está entre 20:1 y 1:20, tal como 5:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:5 o 1:10.

35 La relación molar de regorafenib a profármaco de fosforamido de troxacitabina se puede medir durante diferentes períodos. Por ejemplo, la relación molar puede ser la cantidad de regorafenib a profármaco de fosforamido de troxacitabina administrada al sujeto en un solo día, una sola semana, 14 días, 21 días o 28 días.

40 Según ciertas realizaciones, el regorafenib y el profármaco de fosforamido de troxacitabina se administran cada uno diariamente (como cada día, dos veces al día o tres veces al día) en el mismo día.

45 En dicha realización, el regorafenib y el profármaco de fosforamido de troxacitabina pueden administrarse conjuntamente en una unidad de dosificación común administrada por vía oral, como una cápsula, una cápsula de gelatina blanda o un comprimido.

En otras realizaciones, el regorafenib y el profármaco de fosforamido de troxacitabina se administran como unidades de dosificación administradas por vía oral separadas.

50 En una realización representativa del párrafo inmediatamente anterior, la(s) unidad(es) de dosificación de regorafenib y la(s) unidad(es) de dosificación del profármaco de fosforamido de troxacitabina se administran con una diferencia de al menos 6 horas en un día determinado, preferiblemente con una diferencia de al menos 8 horas y típicamente con una diferencia de alrededor de 12 horas, para la comodidad del paciente.

55 En ciertas realizaciones, el regorafenib y el profármaco de fosforamido de troxacitabina se administran alternativamente en ciclos de tratamiento de monoterapia de 1 a 28 días, opcionalmente intercalados con períodos sin tratamiento de 1 a 28 días.

60 Como se usa en este documento, «monoterapia» del regorafenib o del profármaco de fosforamido de troxacitabina significa que el regorafenib no se administra durante un ciclo del profármaco de fosforamido de troxacitabina y viceversa. La monoterapia no excluye la administración conjunta de otros agentes terapéuticos (incluidos otros agentes antineoplásicos o paliativos, todo ello según lo prescriba el médico responsable).

65 Tal como se usa en este documento para describir intervalos, por ejemplo, de relaciones, dosis, tiempos y similares, el término «aproximadamente» abarca variaciones que están dentro del margen de error relevante,

esencialmente iguales (por ejemplo, dentro de un intervalo de confianza aceptado en la técnica, tal como el 95 % para fenómenos que siguen una distribución normal o gaussiana), o que de otro modo no cambian materialmente el efecto de lo que se está cuantificando.

- 5 Un médico puede prescribir un ciclo de terapia con sorafenib y profármaco de fosforamidato de troxacitabina o con regorafenib y profármaco de fosforamidato de troxacitabina. El profármaco de fosforamidato de troxacitabina (y, por tanto, la terapia combinada) se puede administrar durante 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 ciclos.
- 10 Se puede continuar un ciclo de terapia con sorafenib y profármaco de fosforamidato de troxacitabina o con regorafenib y profármaco de fosforamidato de troxacitabina hasta que se alcance un punto final clínico. En algunas realizaciones, la terapia continúa hasta que se produce la progresión de la enfermedad o una toxicidad inaceptable. En algunas realizaciones, la terapia continúa hasta lograr una tasa de respuesta patológica completa (pCR) definida como la ausencia de cáncer de hígado (por ejemplo, CHC). En algunas realizaciones, la terapia continúa hasta la remisión parcial o completa del cáncer de hígado. La administración del profármaco de fosforamidato de troxacitabina y regorafenib a una pluralidad de sujetos con CHC aumenta la supervivencia general (SG), la supervivencia sin progresión (SSP), la supervivencia sin enfermedad (SSE), la tasa de respuesta (TR), la calidad de vida (CdV) o una combinación de estas.
- 15 En diversas realizaciones, el tratamiento reduce el tamaño y/o el número de los tumores de cáncer de hígado. El tratamiento puede evitar que los tumores de cáncer de hígado aumenten en tamaño y/o número. El tratamiento puede evitar que los tumores de cáncer de hígado hagan metástasis.
- En los métodos de la invención, la administración no está limitada a ningún sistema de administración en particular y puede incluir, sin limitación, administración parenteral (incluyendo inyección subcutánea, intravenosa, intramedular, intraarticular, intramuscular o intraperitoneal), rectal, tópica, transdérmica o preferiblemente oral (por ejemplo, en cápsulas, suspensiones o comprimidos).
- 25 La administración a un individuo puede ocurrir en una dosis única o en administraciones repetidas, y en cualquiera de una variedad de formas de sal fisiológicamente aceptables, y/o con un vehículo farmacéutico aceptable y/o aditivo como parte de una composición farmacéutica.
- 30 Las formas de sal fisiológicamente aceptables y las técnicas de formulación farmacéutica estándar, las dosis y los excipientes son bien conocidos por las personas expertas en la materia (véase, por ejemplo, Physicians' Desk Reference (PDR®) 2005, 59.^a ed., Medical Economics Company, 2004; y Remington: The Science and Practice of Pharmacy, eds. Gennado et al. 21.^a ed., Lippincott, Williams & Wilkins, 2005).
- Adicionalmente, las dosis efectivas logradas en un animal pueden extrapolarse para su uso en otro animal, incluidos los seres humanos, usando factores de conversión conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Freireich et al., Cancer Chemother Reports 50(4):219-244 (1966) y la tabla a continuación para factores de dosis de superficie equivalente).
- 40

Factores de dosificación de superficie equivalente

De: A:	Ratón (20 g)	Rata (150 g)	Mono (3.5 kg)	Perro (8 kg)	Ser humano (60 kg)
Ratón	1	0.5	0.25	0.17	0.08
Rata	2	1	0.5	0.25	0.14
Mono	4	2	1	0.6	0.33
Perro	6	4	1.7	1	0.5
Ser humano	12	7	3	2	1

- 45 Las terapias combinadas no están limitadas específicamente a ningún curso o régimen particular y pueden emplearse por separado o junto con otras modalidades terapéuticas (por ejemplo, quimioterapia o radioterapia).
- 50 Una terapia combinada puede incluir terapias adicionales (por ejemplo, farmacéuticas, de radiación y similares) más allá del sorafenib y profármaco de fosforamidato de troxacitabina o el regorafenib y profármaco de fosforamidato de troxacitabina. De manera similar, la presente invención se puede usar como terapia adyuvante (por ejemplo, cuando se combina con cirugía). En diversas realizaciones, el sujeto también se trata mediante resección quirúrgica, inyección percutánea de etanol o ácido acético, quimioembolización transarterial, ablación

por radiofrecuencia, ablación láser, crioablación, radioterapia estereotáctica con radiación de haz externo enfocado, radioterapia interna selectiva, administración intraarterial de yodo-131-lipiodol y/o ultrasonido enfocado de alta intensidad.

5 La combinación del profármaco de fosforamidato de troxacitabina y sorafenib se puede usar como terapia adyuvante, neoadyuvante, concomitante, concurrente o paliativa. La combinación del profármaco de fosforamidato de troxacitabina y sorafenib se puede usar como terapia de primera línea, terapia de segunda línea o terapia cruzada.

10 La combinación del profármaco de fosforamidato de troxacitabina y regorafenib se puede usar como terapia adyuvante, neoadyuvante, concomitante, concurrente o paliativa. La combinación del profármaco de fosforamidato de troxacitabina y regorafenib se puede usar como terapia de primera línea, terapia de segunda línea o terapia cruzada.

15 En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz de sorafenib se reduce a través de la combinación con el profármaco de fosforamidato de troxacitabina. Por ejemplo, la dosis semanal o mensual de sorafenib puede reducirse al menos en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más con respecto a la dosis máxima recomendada o la dosis máxima tolerada. En otras realizaciones, sorafenib se administra a una dosis efectiva que es al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más inferior a la dosis necesaria para ser efectiva en ausencia de la administración de profármaco de fosforamidato de troxacitabina. En algunas realizaciones, la Cl_{50} de sorafenib se reduce al menos 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 veces con respecto a la Cl_{50} en ausencia del profármaco de fosforamidato de troxacitabina.

25 En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz de regorafenib se reduce a través de la combinación con el profármaco de fosforamidato de troxacitabina. Por ejemplo, la dosis semanal o mensual de regorafenib puede reducirse al menos en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más con respecto a la dosis máxima recomendada o la dosis máxima tolerada. En otras realizaciones, regorafenib se administra a una dosis efectiva que es al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más inferior a la dosis necesaria para ser efectiva en ausencia de la administración de profármaco de fosforamidato de troxacitabina. En algunas realizaciones, la Cl_{50} de regorafenib se reduce al menos 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 veces con respecto a la Cl_{50} en ausencia del profármaco de fosforamidato de troxacitabina.

Se proporcionan descripciones y realizaciones adicionales de terapias combinadas en la sección de Ejemplos a continuación.

35 Descripción detallada de las realizaciones representativas

Las realizaciones ilustrativas de la invención se describirán en los siguientes ejemplos, con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

40 La Figura 1A representa una matriz de concentración/actividad del fármaco de la combinación de sorafenib y el estereoisómero de fósforo único del profármaco de fosforamidato de troxacitabina denominado 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-1,3-dioxolan-2-il)metoxi)-(fenoxi)fosforil)amino)propanoato de (2S)-2-propilpentilo.

45 La Figura 1B representa el gráfico de sinergia 3D derivado de los datos de la Figura 1A.

La Figura 2A representa una matriz de concentración/actividad del fármaco de la combinación de sorafenib y el estereoisómero de fósforo único del profármaco de fosforamidato de troxacitabina denominado 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-1,3-dioxolan-2-il)metoxi)-(fenoxi)fosforil)amino)propanoato de (2S)-2-propilpentilo.

50 La Figura 2B representa el gráfico de sinergia i3D derivado de los datos de la Figura 2A.

55 La Figura 3A representa una matriz de concentración/actividad del fármaco de la combinación de sorafenib y el estereoisómero de fósforo único del profármaco de fosforamidato de troxacitabina denominado 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-1,3-dioxolan-2-il)metoxi)-(4-bromofenoxi)fosforil)amino)propanoato de (2S)-(S)-pentan-2-ilo.

60 La Figura 3B representa el gráfico de sinergia i3D derivado de los datos de la Figura 3A.

La Figura 4A representa una matriz de concentración/actividad del fármaco de la combinación de sorafenib y el estereoisómero de fósforo único del profármaco de fosforamidato de troxacitabina denominado 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-1,3-dioxolan-2-il)metoxi)-(fenoxi)fosforil)amino)-3-metilbutanoato de (2S)-(R)-sec-butilo.

65

La Figura 4B representa el gráfico de sinergia i3D derivado de los datos de la Figura 4A.

Los Ejemplos no limitan de ninguna manera la invención.

5 Procedimiento general para la evaluación combinatoria en cultivos celulares

Subcultivo:

10 Para el análisis de la estirpe celular de carcinoma hepatocelular humano se usó Hep3B, de DSMZ (ACC 93). Las células Hep3B se cultivaron como células epiteliales en monocapas en MEM al 90 % (con sales de Earle) + 10 % h. i. FBS + 2 mM de L-glutamina + 50 u/ml de penicilina / 0.05 mg/ml de estreptomicina como medio de cultivo. Los cultivos confluentes se dividieron 1:4 a 1:10 cada 3-5 días usando tripsina/EDTA y se volvieron a sembrar a $(0.5-1) \times 10^6$ células/80 cm².

15 Materiales:

Se usó medio celular completo sin rojo fenol:

DMEM sin rojo fenol

20

10 % de FCS

50 u/ml de penicilina / 0.05 mg/ml de estreptomicina

25 Tripsina-EDTA PAA cat. n.º L11-004 de Fisher Scientific

Placa de ensayo de células para células adherentes, 96 pocillos, n.º de cat. 128009296 de Fisher Scientific

Cinta de sellado, Nunc cat. n.º 732 610 de VWR

30

Compuestos de prueba:

Compuestos preparados hasta una solución madre de 10 mM en DMSO (Carlo Erba Reactifs - SDS, cat. n.º 03502T16)

35

Análisis de la proliferación celular:

Kit de recuento de células 8 CK04 de Dojindo

40 Instrumento:

Manipulador de líquidos acústico Echo 550 de Labcyte

Tecan sunrise, espectrofotómetro

45

Software (shareware)

MacSynergy II descargado desde <https://www.uab.edu/medicine/peds/macsynergy>

50 (Prichard, M.N. y C. Shipman, Jr. 1990. (Revisión) Un modelo tridimensional para analizar interacciones fármaco-fármaco. Antiviral Res. 14:181-206.)

Procedimiento de prueba:

55 Día 1. Siembra de células:

El matraz de cultivo celular se lava 2 veces con 5 ml de PBS y se desecha el PBS. Añadir 1.5 ml de tripsina y colocar el matraz en la incubadora durante 3-4 minutos. Agitar el matraz y añadir 10 ml de DMEM, FCS al 10 %, 50 µ/ml de penicilina / 0.05 mg/ml de estreptomicina sin rojo fenol. Las células se contaron usando el contador de células Scepter, las células Hep3B se diluyeron a 20×10^3 células/ml en medio celular completo sin rojo fenol. Se sembraron 100 µl de suspensión celular/pocillo en placas de ensayo de células de 96 pocillos. Dos placas replicadas para cada combinación.

60

Día 2, adición del compuesto de prueba:

65

Los compuestos de prueba se probaron a nueve concentraciones, ya sea de 5 µM a 0.00076 µM o de 10 µM

a 0.0015 μM , en una serie de diluciones de 1:3. Se probó sorafenib a siete concentraciones, 20 μM a 0.31 μM , en una serie de diluciones 1:2. Las cuatro placas de dilución se prepararon con el instrumento Echo.

Las diluciones del compuesto fueron 2 veces las concentraciones finales deseadas. El volumen en las placas de dilución en cada pocillo es de 125 μl de medio con compuestos.

Se transfirieron 100 μl de la placa de dilución con compuestos en las diferentes concentraciones al pocillo correspondiente de la placa de ensayo celular con 100 μl , (200 μl /pocillo en volumen total). Incubar las placas durante 6 días, a 37 °C, CO₂ al 5 %.

Día 7, lectura de placas:

Se añadieron 10 μl de CCK Kit-8 a cada pocillo usando una pipeta multicanal (sumergiendo las puntas debajo de la superficie en cada pocillo). Las placas se incubaron durante 4 horas a 37 °C, CO₂ al 5 %.

Se colocó cinta de sellado en la parte superior de la placa y se mezcló suavemente el contenido de esta.

La placa se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm, con un filtro de referencia de 650 nm. La absorbancia promedio fue >1 a <3 para los controles celulares tratados con vehículo.

Los datos sin procesar de las dos placas de cada combinación se ingresaron en el shareware Mac Synergy II donde se calculó el efecto combinado y se representó gráficamente en un gráfico de superficie de dosis-respuesta en 3D. Las interacciones aditivas teóricas se calculan a partir de las curvas de respuesta a la dosis para cada fármaco individualmente. La superficie aditiva calculada se resta de las superficies de dosis-respuesta determinadas experimentalmente para revelar regiones de actividad no aditiva. Los resultados finales se dan como volúmenes de sinergia o antagonismo ($\mu\text{M}^2\%$) según las pautas proporcionadas en el manual de MacSynergy II:

Volúmenes de sinergia:

1. Los valores de sinergia o antagonismo inferiores a 25 $\mu\text{M}^2\%$ (volúmenes logarítmicos <2) con un 95 % de confianza deben considerarse insignificantes y probablemente no sean importantes.

2. Los valores entre 25 $\mu\text{M}^2\%$ y 50 $\mu\text{M}^2\%$ (volúmenes logarítmicos >2 y <5) deben considerarse una cantidad minoritaria, pero significativa de sinergia.

3. Valores entre 50 $\mu\text{M}^2\%$ y 100 $\mu\text{M}^2\%$ (volúmenes logarítmicos >5 y <9) indican sinergia o antagonismo moderado. Esta interacción puede ser importante *in vivo*.

4. Los valores superiores a 100 $\mu\text{M}^2\%$ (volúmenes logarítmicos >9) indican una fuerte sinergia y probablemente sean importantes *in vivo*.

Procedimiento general para la evaluación *in vivo* de combinaciones de sorafenib y un profármaco de fosforamidato de troxacitabina

Los efectos del tratamiento con el profármaco de fosforamidato de troxacitabina en combinación con sorafenib se pueden evaluar *in vivo* en modelos de xenoinjerto subcutáneo de carcinoma hepatocelular (CHC). Los modelos se basan en la inoculación de células CHC (por ejemplo, Hep3B, Huh-7 o HepG2) en el flanco izquierdo de ratones inmunodeprimidos. El volumen del tumor se evalúa unas tres veces por semana y el tratamiento con el compuesto generalmente se inicia cuando el tamaño del tumor es de 100 mm³ a 200 mm³. Un estudio típico consiste en 4 grupos (n = 10 ratones/grupo);

1) vehículo (control),

2) profármaco de fosforamidato de troxacitabina,

3) sorafenib solo, y

4) profármaco de fosforamidato de troxacitabina en combinación con sorafenib.

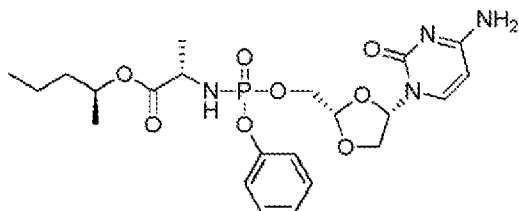
El profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administra por sonda oral en dosis de (25-100) mg/kg una o dos veces al día durante un período de 5 a 21 días. Como alternativa, para los profármacos con metabolismo rápido en la sangre de roedores, la sinergia se puede modelar administrando troxacitabina original por vía intraperitoneal (i. p.) en dosis de 2.5 mg/kg a 25 mg/kg una o dos veces al día. El sorafenib se administra por sonda oral una vez al día en dosis de 10 mg/kg a 50 mg/kg durante un período total de 21 días. El crecimiento del tumor se evalúa durante el transcurso del período de tratamiento y después de la interrupción del

tratamiento, si corresponde. Se calcula la inhibición y el retraso del crecimiento del tumor y se realiza un análisis estadístico para evaluar los efectos significativos del tratamiento en comparación con el grupo de control.

Ejemplo 1

5

Sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina con la fórmula:



10 que es un estereoisómero único en el átomo de fósforo,

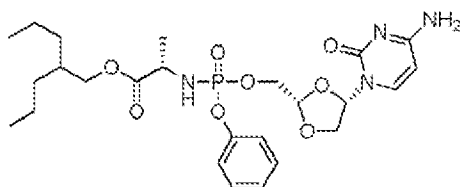
se ensayaron en el ensayo de cultivo celular combinatorio mencionado anteriormente. En la figura 1A se muestran las actividades citotóxicas medidas para cada permutación de concentración de los dos compuestos. En la figura 1B se representa el gráfico de sinergia 3D calculado por MacSynergy II y que concluye un volumen logarítmico de 76 con un 95 % de confianza, lo que corresponde a una fuerte sinergia antiproliferativa.

15

Ejemplo 2

Sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina con la fórmula:

20



que es un estereoisómero único en el átomo de fósforo,

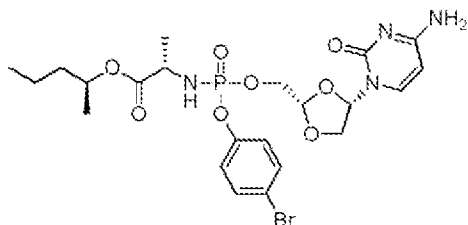
se ensayaron en el ensayo de cultivo celular combinatorio mencionado anteriormente. En la figura 2A se muestran las actividades citotóxicas medidas para cada permutación de concentración de los dos compuestos. En la figura 2B se representa el gráfico de sinergia 3D calculado por MacSynergy II y que concluye un volumen logarítmico de 32 con un 95 % de confianza, lo que corresponde a una fuerte sinergia antiproliferativa.

25

Ejemplo 3

Sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina con la fórmula:

30



35

que es un estereoisómero único en el átomo de fósforo,

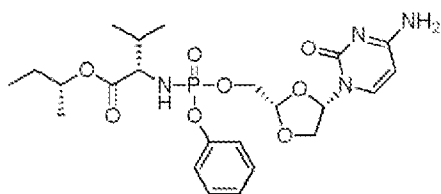
se ensayaron en el ensayo de cultivo celular combinatorio mencionado anteriormente. En la figura 3A se muestran las actividades citotóxicas medidas para cada permutación de concentración de los dos compuestos. En la figura 3B se representa el isoblograma calculado por MacSynergy II y que concluye un volumen logarítmico de 40 con un 95 % de confianza, lo que corresponde a una fuerte sinergia antiproliferativa.

40

Ejemplo 4

Sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina con la fórmula:

45

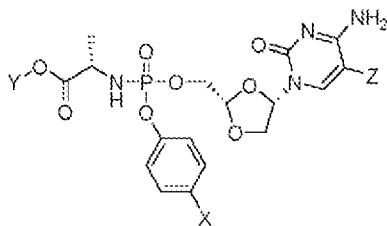


que es un estereoisómero único en el átomo de fósforo,

- 5 se ensayaron en el ensayo de cultivo celular combinatorio mencionado anteriormente. En la figura 4A se muestran las actividades citotóxicas medidas para cada permutación de concentración de los dos compuestos. En la figura 4B se representa el isoblograma calculado por MacSynergy II y que concluye un volumen logarítmico de 46 con un 95 % de confianza, lo que corresponde a una fuerte sinergia antiproliferativa.

REIVINDICACIONES

1. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina con la fórmula:



5

en donde

- a) X es H, Y es 2-propilpentilo y Z es H;
 b) X es H, Y es (S)-pentan-2-ilo y Z es H;
 c) X es Br, Y es (S)-pentan-2-ilo y Z es H;
 d) X es H, Y es (R)-sec-butilo y Z es H;
 e) X es H, Y es 2-etilbutilo y Z es H;
 f) X es ciclopropilo, Y es (S)-pentan-2-ilo y Z es H; o
 g) X es t-butilo, Y es (S)-pentan-2-ilo y Z es H.

10

15

20

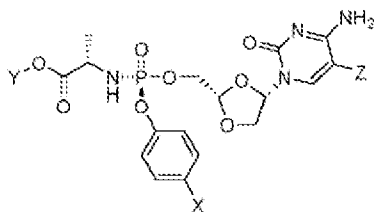
o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para su uso en combinación con un agente terapéutico dirigido que se selecciona entre sorafenib y regorafenib, en el tratamiento del cáncer o de la metástasis de hígado.

25

2. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según la reivindicación 1, en donde el agente terapéutico dirigido es sorafenib.

30

3. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según la reivindicación 1 o 2, en donde el profármaco de fosforamidato de troxacitabina tiene la estereoquímica:



35

4. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según la reivindicación 1 o 2, en donde X es Br, Y es (S)-pentan-2-ilo y Z es H.

40

5. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según cualquier reivindicación precedente, en donde el sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administran cada uno diariamente (como cada día, dos veces al día o tres veces al día) en el mismo día.

45

6. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según la reivindicación 5, en donde el sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administran conjuntamente en una unidad de dosificación común administrada por vía oral.

50

7. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según la reivindicación 5, en donde sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administran como unidades de dosificación administradas por vía oral separadas.

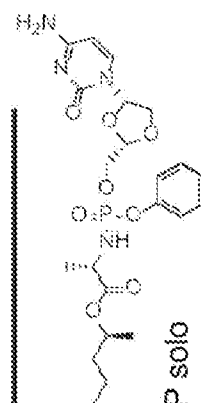
8. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según la reivindicación 7, en donde la(s) unidad(es) de dosificación de sorafenib y la(s) unidad(es) de dosificación del profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administran con una diferencia de al menos 6 horas en un día determinado.

9. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el sorafenib y el profármaco de fosforamidato de troxacitabina se administran alternativamente en ciclos de tratamiento de monoterapia de 1 a 28 días, opcionalmente intercalados con períodos sin tratamiento de 1 a 28 días.
- 5 10. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según la reivindicación 9, en donde el tratamiento comienza con un ciclo de sorafenib.
- 10 11. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde el cáncer de hígado es CHC o colangiocarcinoma intrahepático.
12. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la metástasis de hígado se deriva de cáncer colorrectal.
- 15 13. Un profármaco de fosforamidato de troxacitabina para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la metástasis de hígado se deriva de cáncer de mama, cáncer de esófago, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de páncreas o cáncer de estómago.

Figura 1A

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0
B	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0
C	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0
D	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0
E	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0
F	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0
G	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0
H	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0	0.0000 0.0

Sorafenib (20 μ M a 0.31 μ M)



(10 μ M a 0.0015 μ M)

Figura 1B

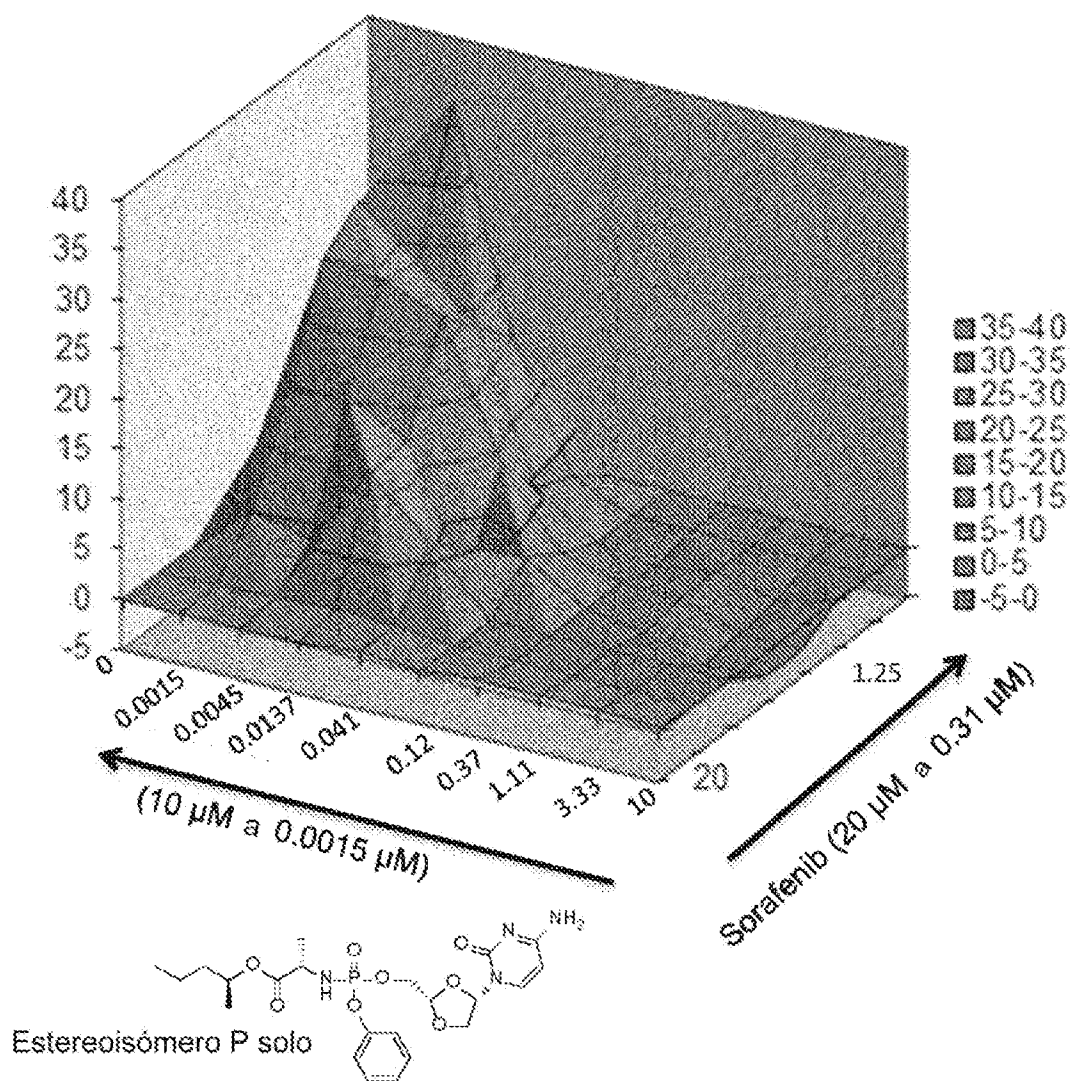


Figura 2A

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	0.153 93	0.144 94	0.132 94	0.14 94	0.145 94	0.151 94	0.143 94	0.159 93	0.147 94	0.145 94	2.54 0 CEL.
B	0	0.00076 93	0.0027 94	0.0068 94	0.00 94	0.051 94	0.165 94	0.55 93	1.66 94	5 94	0 0 CEL.
B	0	0.00076 93	0.0027 94	0.0068 94	0.00 94	0.051 94	0.165 94	0.55 93	1.66 94	5 94	0 0 CEL.
C	0	0.00076 93	0.0027 94	0.0068 94	0.00 94	0.051 94	0.165 94	0.55 93	1.66 94	5 94	0 0 CEL.
D	0	0.00076 93	0.0027 94	0.0068 94	0.00 94	0.051 94	0.165 94	0.55 93	1.66 94	5 94	0 0 CEL.
E	0	0.00076 93	0.0027 94	0.0068 94	0.00 94	0.051 94	0.165 94	0.55 93	1.66 94	5 94	0 0 CEL.
F	0	0.00076 93	0.0027 94	0.0068 94	0.00 94	0.051 94	0.165 94	0.55 93	1.66 94	5 94	0 0 CEL.
G	0	0.00076 93	0.0027 94	0.0068 94	0.00 94	0.051 94	0.165 94	0.55 93	1.66 94	5 94	0 0 CEL.
H	0	0.00076 93	0.0027 94	0.0068 94	0.00 94	0.051 94	0.165 94	0.55 93	1.66 94	5 94	0 0 CEL.

Sorafenib (20 μ M a 0.31 μ M)

(5 μ M a 0.00076 μ M)

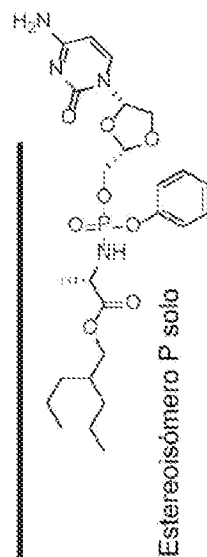


Figura 2B

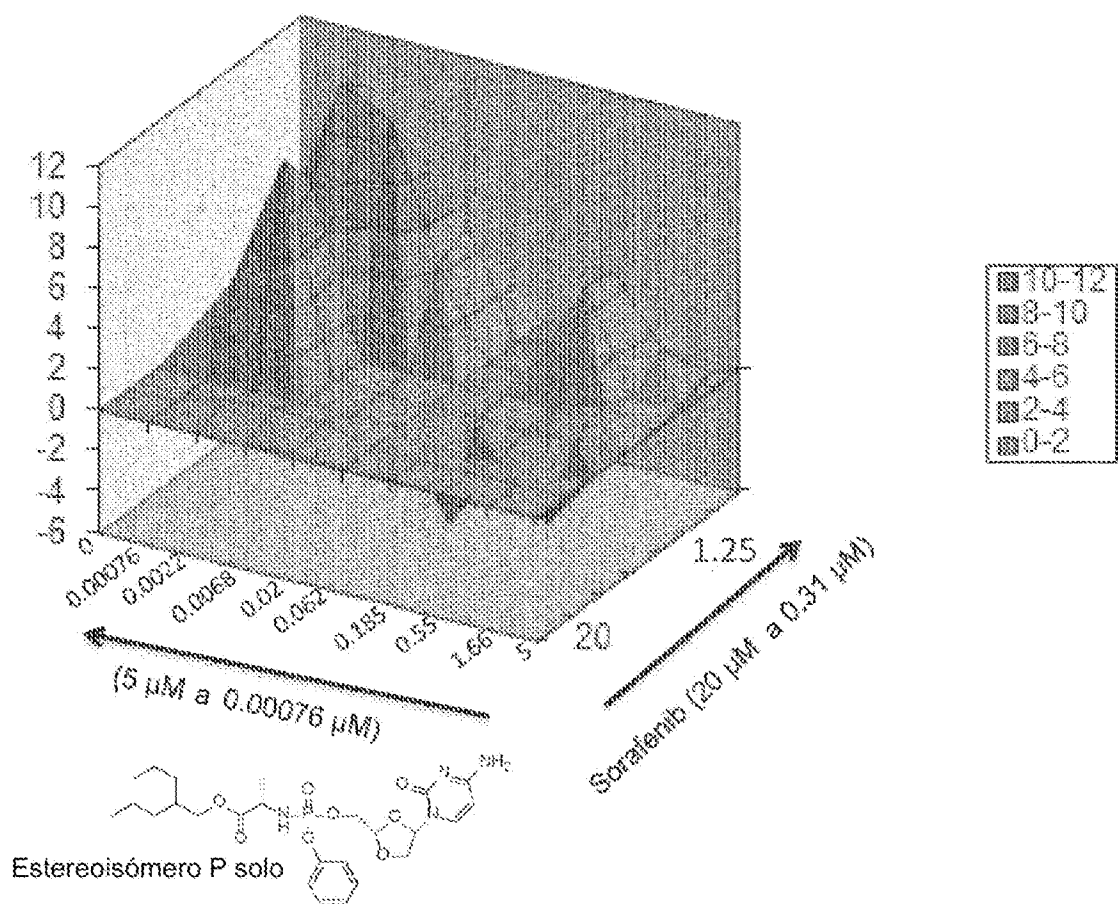


Figura 3A

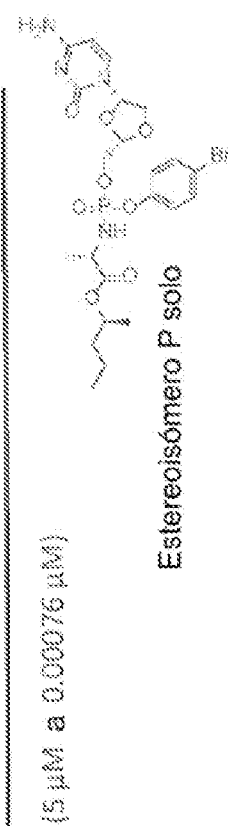
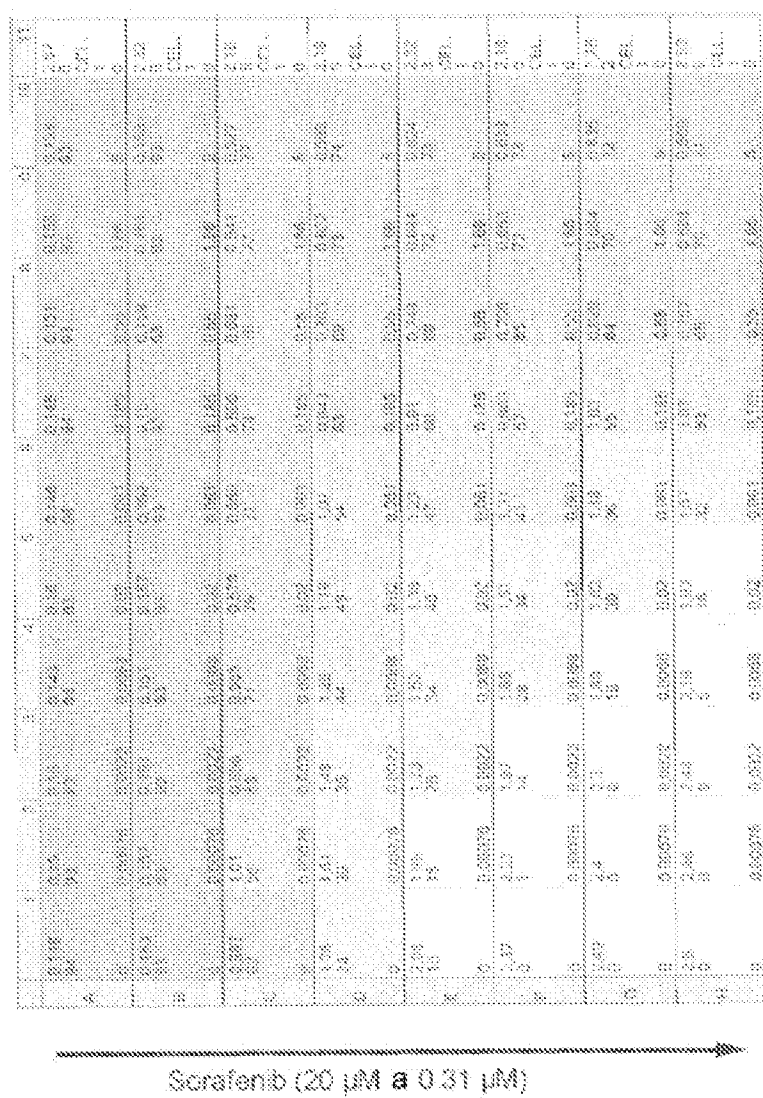


Figura 3B

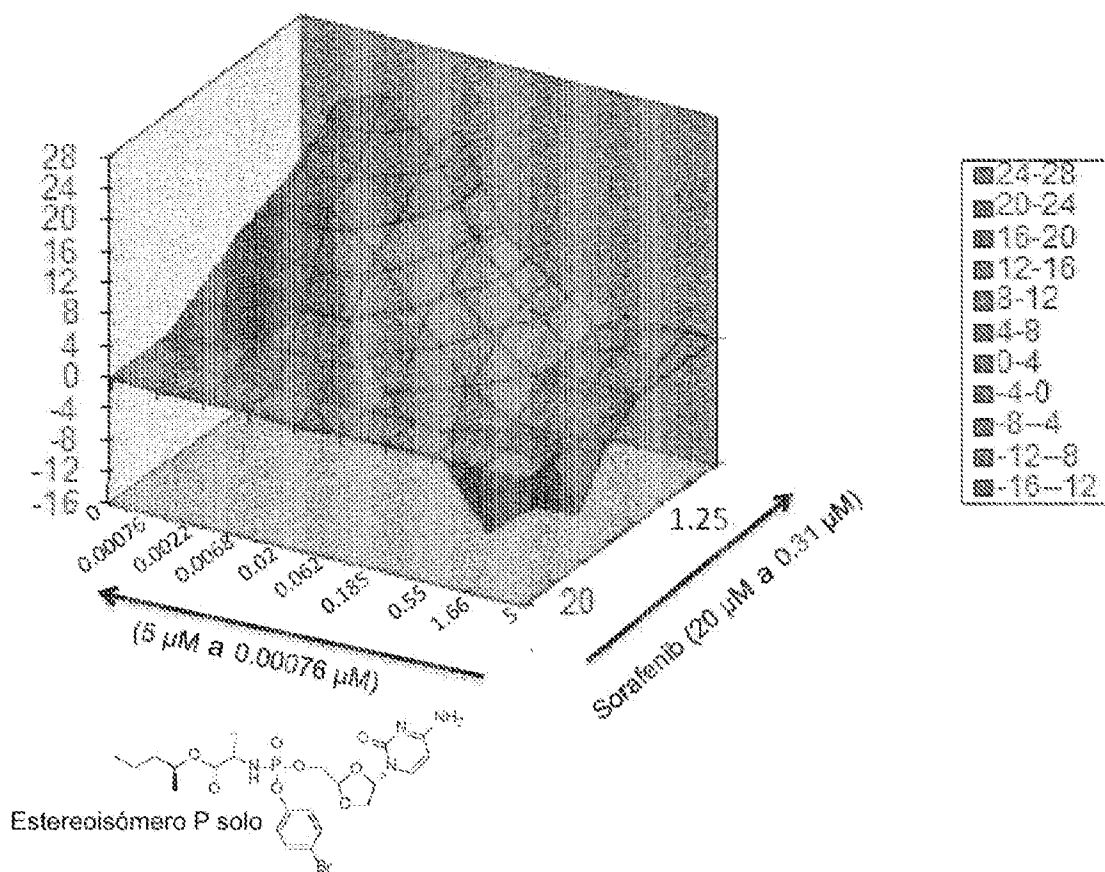


Figura 4A

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	0.132 84	0.130 84	0.130 84	0.130 84	0.132 84	0.132 84	0.134 84	0.132 84	0.135 84	0.135 84	2.32 CEL.
B	0.137 84	0.135 84	0.137 84	0.137 84	0.138 84	0.138 84	0.138 84	0.138 84	0.138 84	0.138 84	2.33 CEL.
C	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	2.33 CEL.
D	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	2.33 CEL.
E	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	2.33 CEL.
F	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	2.33 CEL.
G	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	2.33 CEL.
H	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	2.33 CEL.
I	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	0.135 84	2.33 CEL.

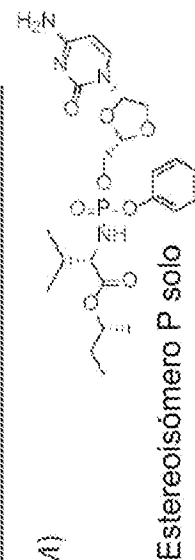
Sorafenib (20 μ M a 0.31 μ M)(10 μ M a 0.0015 μ M)

Figura 4B

