



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 341 728**

51 Int. Cl.:
A61K 31/551 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
C07D 243/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06711726 .7**
96 Fecha de presentación : **16.01.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1839662**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.10.2007**

54 Título: **Agente antitumoral.**

30 Prioridad: **19.01.2005 JP 2005-11158**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
25.06.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
25.06.2010

73 Titular/es: **ZERIA PHARMACEUTICAL Co., Ltd.**
10-11, Nihonbashi Kobuna-cho
Chuo-ku, Tokyo 103-8351, JP

72 Inventor/es: **Yoshinaga, Koji;**
Kawasaki, Daisuke y
Emori, Yutaka

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 341 728 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

Agente antitumoral.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un agente antitumoral, y más concretamente a un agente antitumoral útil para el tratamiento o prevención del cáncer gastrointestinal.

10 **Técnica antecedente**

En Japón, la tasa de mortalidad por cáncer ha ido creciendo, y desde 1981 el cáncer se ha convertido en la causa principal de muerte en Japón. En 2002, el número de víctimas mortales por cáncer fue de 304.286 (esto es, 241,5 por 100.000), representando el 31,0% de todas las muertes. Concretamente, la incidencia de cánceres gastrointestinales tales como el cáncer de páncreas, el cáncer de colon, y el cáncer gástrico es elevada.

Entre estos cánceres gastrointestinales, se sabe que el cáncer de páncreas es un cáncer intratable. En Japón, solamente el hidrocloreuro de gemcitabina está aprobado como agente quimioterapéutico para el cáncer pancreático.

20 No obstante, un agente quimioterapéutico tal como el hidrocloreuro de gemcitabina o el fluorouracilo a menudo causa graves efectos secundarios (p. ej., mielosupresión y neumonía intersticial), y por lo tanto se impone una limitación sobre el intervalo o período de administración de semejante agente quimioterapéutico.

25 Además, se impone una limitación sobre la forma de dosificación de semejante agente quimioterapéutico, puesto que el agente es proporcionado generalmente en forma de infusión para goteo intravenoso. Por lo tanto, ha surgido la demanda de desarrollo de un agente antitumoral que sustituya semejante agente quimioterapéutico.

30 Generalmente se emplea un agente quimioterapéutico que muestra efecto citotóxico o citocida como agente antitumoral, y a menudo se emplea una quimioterapia de combinación de múltiples fármacos, a la vista de que el empleo de varios agentes quimioterapéuticos combinados mitiga los efectos secundarios adversos de los agentes y potencia el efecto antitumoral de los agentes. La quimioterapia de combinación de múltiples fármacos, que generalmente emplea agentes farmacéuticos combinados que muestran diferentes mecanismos de acción y diferentes efectos secundarios, ocasiona el problema de que cuando se produce una toxicidad común a los agentes farmacéuticos (p. ej., mielosupresión), las cantidades de los respectivos agentes farmacéuticos deben ser reducidas (Documento que no es de Patente 1). Asimismo, la quimioterapia de combinación de múltiples fármacos ocasiona el problema de que un agente farmacéutico debe ser remplazado por otro agente farmacéutico debido a la tolerancia al agente farmacéutico.

40 En los últimos años, se han dilucidado, por ejemplo, los mecanismos de crecimiento, metástasis, invasión, y progreso de la malignidad del cáncer a nivel molecular, se han desarrollado varios agentes farmacéuticos basados en la diana que se dirigen a moléculas específicas. Semejante agente farmacéutico para dianas moleculares muestra generalmente una baja citotoxicidad, y se prevé que muestre menos efectos secundarios, en comparación con un agente quimioterapéutico convencional que muestra un efecto citotóxico. Semejante agente farmacéutico basado en la diana, que muestra sus efectos cuando se emplea individualmente, también ha cobrado interés como agente farmacéutico utilizado en combinación con un agente quimioterapéutico (Documento que no es de Patente 2).

45 Previamente, se ha evaluado el tratamiento del cáncer solamente sobre la base de la contracción del cáncer debida al efecto citotóxico del agente quimioterapéutico empleado. No obstante, en los últimos años, la mejora de la calidad de vida (CDV), la supresión de la metástasis, o la prolongación del tiempo de supervivencia se han considerado conceptos de evaluación útiles para evaluar el tratamiento del cáncer, y el uso combinado de un agente quimioterapéutico y un agente farmacéutico basado en la diana se considera un tratamiento del cáncer prometedor (Documento que no es de Patente 3).

50 La gastrina es una hormona gastrointestinal que se considera un factor de crecimiento de las células tumorales. Como se ha revelado, un gen del receptor de gastrina es expresado en las células de cáncer pancreático, cáncer de colon, o cáncer gástrico (esto es, un cáncer gastrointestinal), a través del cual se manifiesta una potente propiedad de crecimiento celular en respuesta a la gastrina (Documentos que no son de Patente 4 y 5).

60 Como se ha informado, similar al caso de semejante cáncer gastrointestinal, se expresa un gen del receptor de gastrina en el caso de la leucemia, el tumor de la pituitaria, el cáncer de pulmón de células pequeñas, el cáncer de tiroides, o el neuroastrocitoma, y la gastrina puede funcionar como factor de crecimiento celular (Documento que no es de Patente 6).

65 Previamente, se había considerado que se producía un incremento en el crecimiento celular principalmente a través de una ruta en la que la gastrina estimula un receptor de gastrina presente sobre la superficie de las células. No obstante, estudios recientes sugieren que existe una ruta para incrementar el crecimiento celular por gastrina en la cual la gastrina se une a un receptor de gastrina, y después se introduce en las células por medio de endocitosis (Documento que no es de Patente 7); y que existe otra ruta en la cual la gastrina se une a una proteína de unión a gastrina presente en las células, regulando de ese modo el crecimiento celular (Documentos que no son de Patente 8 y 9).

ES 2 341 728 T3

Como también se ha informado, la gastrina prolongada con glicina, que es un precursor de la gastrina, se une a un receptor no identificado además de a un receptor de gastrina, regulando de ese modo el crecimiento celular (Documentos que no son de Patente 10 y 11). Por lo tanto, se considera que se produce un crecimiento celular mediado por gastrina a través de una pluralidad de rutas.

5 Los antagonistas de los receptores de gastrina desarrollados convencionalmente son compuestos que se dirigen solamente a los receptores de gastrina, y de este modo semejante antagonista del receptor de gastrina convencional no muestra un efecto antitumoral consistente y fiable. Por ejemplo, se ha informado de que L-365.260, que es un compuesto de benzodiazepina, suprime el crecimiento tumoral inducido por gastrina en un modelo de ratón con xenoinjerto de PANC-1 de cáncer pancreático humano, pero no suprime el crecimiento tumoral sin estimulación por gastrina (Documento que no es de Patente 12). Se ha informado de resultados similares en el caso de CR2093, que es un derivado de ácido glutámico (Documento que no es de Patente 13).

15 Estos datos indican que un antagonista del receptor de gastrina suprime solamente el crecimiento de las células cancerosas inducido por una estimulación de gastrina externa forzada; esto es, crecimiento de células cancerosas inducido por una estimulación de gastrina no fisiológica. Por lo tanto, se considera que un antagonista del receptor de gastrina, que pierde el efecto supresor del crecimiento celular en condiciones fisiológicas, muestra un efecto insuficiente como agente antitumoral.

20 CI-988, que es un derivado pentapeptídico C-terminal de CCK, es conocido como un potente antagonista del receptor de gastrina. No obstante, como se ha informado, cuando se administra oralmente a un ratón con xenoinjerto de cáncer de colon humano a una dosis de 50 mg/kg, CI-988 no muestra un efecto supresor del crecimiento celular, aunque cuando se administra oralmente a una dosis de 25 mg/kg, CI-988 muestra un efecto supresor del crecimiento celular sin estimulación de gastrina no fisiológica (Documento que no es de Patente 14).

25 YF476, que es un compuesto de benzodiazepina, es conocido como un antagonista del receptor de gastrina selectivo y potente. El Documento de Patente 1 describe que YF476 muestra un efecto de contracción del tumor en un modelo con xenoinjerto con cáncer pancreático o cáncer de colon. Sin embargo, el documento de patente describe que este efecto solamente se observa en el caso en el que YF476 es administrado a una dosis elevada de 200 mg/kg o más, y que no está claro si el mecanismo de acción de YF476 está mediado o no por un receptor de gastrina.

30 Como se ha descrito antes, se han desarrollado numerosos antagonistas del receptor de gastrina, pero no se ha obtenido una conclusión fundada con respecto al efecto antitumoral de semejante antagonista. Específicamente, no se ha descrito que el efecto antagónico del receptor de gastrina tiene una correlación simple con el efecto antitumoral, y el papel que juega el receptor de gastrina todavía no ha sido dilucidado completamente.

35 Mientras, no está realmente claro si el compuesto de 1,5-benzodiazepina descrito en el Documento de Patente 2 y que tiene efecto antagónico de gastrina muestra o no un efecto antitumoral útil.

40 Documento de Patente 1: WO 02/092096

Documento de Patente 2: WO 01/40197

Documento que no es de Patente 1: Nippon Rinsho 2003, 61, 6, 1015-1020

45 Documento que no es de Patente 2: Nippon Rinsho 2004, 62, 7, 1232-1240

Documento que no es de Patente 3: J Clin Oncol 2003, 21, 7, 1404-1411

Documento que no es de Patente 4: Am J Physiol 1985, 249, G761-769

50 Documento que no es de Patente 5: Am J Physiol 1994, 266, R277-283

Documento que no es de Patente 6: Igaku no Ayumi 1998, 184, 4, 260-261

55 Documento que no es de Patente 7: Cell Tissue Res. 1997, 287, 325-333

Documento que no es de Patente 8: J Gastroenterol Hepatol. 1995, 10, 215-232

Documento que no es de Patente 9: Eur J Pharmacol. 2000, 388, 9-15

60 Documento que no es de Patente 10: Science 1994, 265, 410-412

Documento que no es de Patente 11: Regul Pept. 2000, 93, 37-44

Documento que no es de Patente 12: Am J Physiol. 1995, 268, R135-141

65 Documento que no es de Patente 13: Br J Cancer. 1992, 65, 879-883

Documento que no es de Patente 14: Clin Exp Pharmacol Physiol. 1996, 23, 438-440

Descripción de la invención**Problemas a resolver por la invención**

5 Un objeto de la presente invención es proporcionar un agente antitumoral; en particular, un agente antitumoral útil para el tratamiento y/o la prevención, por ejemplo, del cáncer gastrointestinal, la leucemia, el tumor de la pituitaria, el tumor de pulmón de células pequeñas, el cáncer de tiroides, y el neuroastrocitoma.

Medios para resolver los problemas

10 Los autores de la presente invención han llevado a cabo estudios extensos sobre el efecto anti-tumoral de un derivado de 1,5-benzodiazepina descrito en el documento WO 01/40197 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y como resultado han encontrado que el compuesto muestra un buen efecto antitumoral.

15 Por consiguiente, la presente invención proporciona un agente antitumoral que contiene, como ingrediente activo, un derivado de 1,5-benzodiazepina que es el ácido (R)-(-)-3-[3-(1-tert-butil-carbonilmetil-2-oxo-5-ciclohexil-1,3,4,5-tetrahidro-2H-1,5-benzodiazepin-3-il)-ureido]benzoico o una de sus sales farmacéuticamente aceptables (compuesto A) para su uso en la prevención o el tratamiento de un cáncer gastrointestinal.

20 La presente invención también proporciona el uso de un derivado de 1,5-benzodiazepina representado por el compuesto A para producir un agente antitumoral para un cáncer gastrointestinal.

La presente invención también proporciona un método para tratar un cáncer gastrointestinal, que incluye administrar, en una cantidad eficaz, un derivado de 1,5-benzodiazepina representado por el compuesto A.

Efectos de la invención

El compuesto de acuerdo con la presente invención no muestra el efecto citocida que muestra un agente quimioterapéutico convencional, y no muestra los graves efectos secundarios en ensayos de seguridad utilizando animales; esto es, el compuesto tiene un bajo riesgo de efectos secundarios graves (p. ej., mielosupresión y neumonía intersticial), que serían causados por un agente quimioterapéutico convencional. Por lo tanto, el compuesto es útil como agente farmacéutico antitumoral, por ejemplo, para el cáncer gastrointestinal, la leucemia, el tumor de la pituitaria, el cáncer de pulmón de células pequeñas, el cáncer de tiroides, y el neuroastrocitoma.

35 Puesto que el agente farmacéutico de acuerdo con la presente invención muestra una baja toxicidad, el agente farmacéutico se puede administrar de manera continua, y se puede administrar oralmente. Por lo tanto, el agente farmacéutico puede ser preparado en una forma de dosificación simple, en comparación con el caso de un agente quimioterapéutico convencional.

40 Cuando el agente farmacéutico de acuerdo con la presente invención se emplea en una quimioterapia combinada de múltiples fármacos, la dosis del agente farmacéutico antitumoral que muestra efectos secundarios graves se puede reducir, probablemente realizando una quimioterapia combinada de múltiples fármacos que muestre un buen efecto antitumoral y unos efectos secundarios reducidos. Cuando el agente farmacéutico se administra de una manera continua incluso después de la administración de un agente quimioterapéutico convencional, se prevé que el agente farmacéutico muestre el efecto de suprimir el crecimiento tumoral; esto es, el agente farmacéutico también se puede emplear como agente preventivo de tumores para un cáncer gastrointestinal.

Mejores modos de llevar a cabo la invención

50 Entre los compuestos de la invención están el ácido (R)-(-)-3-[3-(1-tert-butilcarbonilmetil-2-oxo-5-ciclohexil-1,3,4,5-tetrahidro-2H-1,5-benzodiazepin-3-il)ureido]benzoico o una de sus sales farmacéuticamente aceptables (compuesto A).

55 Los ejemplos de las sales del compuesto A incluyen sales inorgánicas tales como una sal de sodio, una sal de potasio, una sal de calcio, y una sal de magnesio; sales orgánicas tales como una sal de amonio, una sal de piridina, una sal de trietilamina, una sal de etanolamina, una sal de α -fenetilamina en forma (R) o (S), una sal de bencilamina, y una sal de 4-metilbencilamina; y sales de adición de ácido con ácidos orgánicos e inorgánicos. De estas, se prefieren las sales alcalinas. Entre las sales alcalinas, son más preferidas las sales inorgánicas. Entre las sales inorgánicas, se prefieren las sales de metales alcalinotérreos, siendo particularmente preferida una sal de calcio.

60 Según se utiliza en la presente memoria, "compuesto A" incluye sus isómeros, diastereoisómeros, solvatos (p. ej., hidratos), y formas polimórficas cristalinas ópticamente activas.

El Compuesto A puede ser producido por medio del método descrito en el documento WO 01/40197.

65 Como se describe más abajo en los Ejemplos, el Compuesto A suprime el crecimiento de diferentes cánceres gastrointestinales, y prolonga de manera estadísticamente significativa el tiempo de supervivencia de un anfitrión con cáncer. Por lo tanto, el compuesto A es útil como agente farmacéutico para la prevención o el tratamiento de diferentes

ES 2 341 728 T3

tumores. Cuando se administró el compuesto A a ratas y perros a una dosis de 1.000 mg/kg durante 28 días, no se observaron fallecimientos. Además, no se encontraron anomalías en el peso corporal, la ingestión de alimento, el análisis oftalmológico, el análisis de orina, el peso de los órganos, los descubrimientos en la autopsia, y el ensayo histopatológico; esto es, el compuesto A muestra una seguridad muy elevada.

5

No se impone ninguna limitación concreta sobre el cáncer gastrointestinal al cual se aplica el agente antitumoral de acuerdo con la presente invención. El agente antitumoral de acuerdo con la presente invención es útil para la prevención y/o el tratamiento del cáncer gastrointestinal (en particular, cáncer pancreático, cáncer de colon, o cáncer gástrico).

10

El agente antitumoral de acuerdo con la presente invención puede contener un portador o coadyuvante farmacéuticamente aceptable, y se puede administrar oralmente o parenteralmente. El agente antitumoral se puede administrar oralmente en forma de un producto sólido tal como un comprimido, un gránulo, un polvo, o una cápsula. Para la preparación de semejante producto sólido, se puede combinar el agente antitumoral con un aditivo apropiado, tal como un excipiente (p. ej., lactosa, manitol, almidón de maíz, o celulosa cristalina), un aglutinante (p. ej., un derivado de celulosa, goma arábiga, o gelatina), un disgregante (p. ej., carboximetilcelulosa cálcica), o un lubricante (p. ej., talco o estearato de magnesio). Semejante producto sólido se puede preparar en un producto de liberación controlada mediante el uso de un material base de recubrimiento tal como ftalato de hidroximetilcelulosa, acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato ftalato de celulosa, o copolímero de metacrilato. El agente antitumoral también se puede preparar en un producto líquido tal como una solución, una suspensión, o una emulsión.

20

El agente antitumoral de acuerdo con la presente invención se puede administrar parenteralmente en forma de inyectable. Para la preparación de un inyectable, se puede combinar el agente antitumoral, por ejemplo, con agua, etanol, glicerina, o un tensioactivo empleado convencionalmente. El agente antitumoral también se puede preparar en forma de supositorio mediante el uso de un material base apropiado.

25

La dosis de compuesto A contenido en el agente antitumoral de acuerdo con la presente invención se determina apropiadamente considerando el método de administración y la forma del producto, así como los síntomas, la edad, el sexo, etc. de los pacientes individuales que lo necesitan. La dosis oral diaria del compuesto (1) para un adulto es típicamente de 10 a 1.000 mg, preferiblemente de 50 a 600 mg, más preferiblemente de 180 a 500 mg. Preferiblemente, la dosis oral diaria se administra una vez al día, o de forma dividida (dos a tres veces al día).

30

El agente antitumoral de acuerdo con la presente invención se puede administrar combinado con un agente antitumoral empleado en una terapia combinada de múltiples fármacos (esto es, al menos un agente antitumoral distinto del agente antitumoral de acuerdo con la presente invención) o con una terapia por radiación, en la cual estos agentes antitumorales se pueden administrar simultáneamente o separadamente a la misma frecuencia de dosificación o a diferentes frecuencias a través del mismo método de administración o diferentes métodos de administración. De este modo, el agente antitumoral de acuerdo con la presente invención se puede emplear combinado con una terapia combinada de múltiples fármacos o con una terapia por radiación para tratar pacientes con cáncer.

35

Cuando el agente antitumoral de acuerdo con la presente invención se emplea en una terapia combinada de múltiples fármacos, se puede añadir el agente antitumoral a diferentes agentes farmacéuticos empleados en la terapia combinada, o se puede sustituir por uno o dos agentes anticancerosos entre los agentes farmacéuticos. Los ejemplos de los agentes antitumorales que se emplean preferiblemente combinados con el agente antitumoral de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no están limitados a, antimetabolitos tales como fluorouracilo, hidrocloreuro de gemcitabina, metotrexato, citarabina, y fludarabina; antibióticos antitumorales tales como hidrocloreuro de bleomicina, mitomicina C, hidrocloreuro de doxorubicina, hidrocloreuro de daunorrubicina, e hidrocloreuro de idarrubicina; agentes alquilantes tales como busulfan, complejos metálicos de coordinación (carboplatino y cisplatino), ciclofosfamida, dacarbazina, y melfalán; inhibidores de aromatasas no esteroideas tales como anastrozol y exemestano; agentes inmunoterapéuticos tales como trastuzumab y rituximab; inhibidores mitóticos tales como paclitaxel, hidrato de docetaxel, sulfato de vincristina, y sulfato de vinblastina; inhibidores de topoisomerasa tales como hidrocloreuro de irinotecan; agentes para terapia hormonal tales como citrato de tamoxifeno y acetato de leuprorelina; y otros agentes antitumorales tales como levofolinato de calcio, inhibidores de tirosina quinasa (p. ej., gefitinib), anticuerpos monoclonales (p. ej., cetuximab y bevacizumab), inhibidores de la metaloproteasa de la matriz, e inhibidores de farnesiltransferasa. Particularmente de modo preferible, el agente antitumoral de acuerdo con la presente invención se añade durante el uso de hidrocloreuro de gemcitabina, que se sabe que muestra el efecto de tratamiento del cáncer pancreático, o se añade el agente antitumoral para la terapia combinada empleando hidrocloreuro de gemcitabina y otro agente quimioterapéutico (p. ej., fluorouracilo, levofolinato de calcio, hidrocloreuro de irinotecan, o un complejo metálico de coordinación).

45

50

55

Cuando el compuesto A se emplea combinado con otros agentes antitumorales, la dosis del compuesto A o los agentes antitumorales, se determina apropiadamente considerando, por ejemplo, la identidad de cada uno de los agentes antitumorales, los síntomas del paciente que los necesita, y el método de administración de los mismos. En una terapia combinada de múltiples fármacos, la dosis de compuesto A es similar a la descrita antes. El período de administración, la frecuencia de administración, y la forma de dosificación del compuesto A se optimizan considerando la identidad de cada uno de los agentes antitumorales empleados combinados con el compuesto A. Específicamente, el compuesto A y al menos un agente antitumoral (preferiblemente, de uno a cuatro agentes antitumorales) se administran simultáneamente o por separado a la misma frecuencia o diferentes frecuencias en la misma forma de dosificación o formas de dosificación diferentes. En la terapia combinada de múltiples fármacos, preferiblemente, el compuesto A es administrado intravenosamente una o más veces al día. El agente antitumoral se administra generalmente por medio

65

ES 2 341 728 T3

de infusión intravenosa, pero más preferiblemente se administra por la ruta oral en vista de que se puede seleccionar una forma de dosificación simple.

5 Como se describe más abajo en los Ejemplos, cuando se emplea el agente antitumoral de acuerdo con la presente invención combinado con otro agente antitumoral, se obtiene un efecto antitumoral excelente sin un incremento de los efectos secundarios. Por lo tanto, cuando el agente farmacéutico de acuerdo con la presente invención se emplea en una terapia combinada de múltiples fármacos, se puede reducir la dosis del otro agente antitumoral que muestra efectos secundarios graves. El agente antitumoral de acuerdo con la presente invención se puede administrar continuamente incluso después de la quimioterapia, y de este modo es muy previsible que se pueda obtener un excelente efecto antitumoral adicional.

15 Se ha informado de que el compuesto A tiene una elevada afinidad de unión a un receptor de gastrina de rata (valor $K_i = 0,24$ nM), y la administración intraduodenal del compuesto A a dosis de 0,17 mg/kg suprime la secreción gástrica estimulada por gastrina en rata en 50% (Gastroenterology 2001; A-311: 1605). Por el contrario, el agente antitumoral para la presente invención requería dosis más elevadas para la expresión del efecto antitumoral.

Ejemplos

20 A continuación se describirá la presente invención con detalle mediante la referencia a Ejemplos y Ejemplos Comparativos, pero la invención no está limitada a estos Ejemplos. El efecto antitumoral y la toxicidad del compuesto A se describirán en los Ejemplos 1 a 6. La preparación del agente antitumoral para la presente invención se describirá en los Ejemplos de Formulación 1 a 3.

25 Ejemplo 1

Se implantaron subcutáneamente 3×10^6 células de células de cáncer pancreático humano (MIAPaCa 2) en el lado derecho del abdomen de ratones carentes de sistema inmunitario Balb/c hembra. Después de que el volumen del tumor alcanzara 100 mm^3 o más, se administró oralmente (R)-(-)-3-[3-(1-tert-butilcarbonilmetil-2-oxo-5-ciclohexil-1,3,4,5-tetrahidro-2H-1,5-benzodiazepin-3-il)-ureido]benzoato de calcio (en adelante denominado "compuesto A1") a los ratones en grupos de administración a dosis de 10, 30, y 100 mg/kg una vez al día durante 21 días. Al día siguiente de la administración final, se separó el tumor y se pesó. Con el fin de comparar, se administró oralmente vehículo a los ratones de un grupo de control, y se midió el peso del tumor de una manera similar a la descrita antes. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento del tumor basándose en los pesos de los tumores en cada grupo de administración frente al del grupo de control. Como resultado, los porcentajes de inhibición de 30 mg/kg y 100 mg/kg de compuesto A1 fueron de 40% y 42%, respectivamente. La administración del compuesto A1 inhibió significativamente el crecimiento del tumor MIAPaCa 2 de una manera dependiente de la dosis.

40 Ejemplo 2

Se implantaron 1×10^6 células de células de cáncer pancreático humano (PAN1VC) en el páncreas de ratones carentes de sistema inmunitario macho. A partir del día siguiente a la implantación del tumor, se administró oralmente el compuesto A1 a dosis de 30 mg/kg y 100 mg/kg una vez al día durante 36 días. Uno, tres, y seis días después de la implantación del tumor, se administró intravenosamente hidrocóloruro de gemcitabina (Gemzar Inyectable (R)) a una dosis de 5 mg/kg. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento del tumor basándose en los pesos de los tumores en cada uno de los grupos de administración frente a un grupo de control. Como resultado, los porcentajes de inhibición de una dosis única de hidrocóloruro de gemcitabina (Gemzar Inyectable (R)), 30 mg/kg de compuesto A1, y 100 mg/kg de compuesto A1 fueron 32%, 19%, y 23%, respectivamente. Por el contrario, cuando se administraron hidrocóloruro de gemcitabina (Gemzar Inyectable (R)) y compuesto A1 combinados, los porcentajes de inhibición de 30 mg/kg y 100 mg/kg de compuesto A1 fueron 73% y 84%, respectivamente. Estos datos indican que la combinación del compuesto A1 e hidrocóloruro de gemcitabina (Gemzar Inyectable (R)) muestra un excelente efecto antitumoral.

55 Ejemplo 3

Se inyectaron intraperitonealmente $1,5 \times 10^6$ células de células de cáncer de colon humano (C170HM2) en ratones carentes de sistema inmunitario macho. Después de la implantación, en los grupos de administración, se administró oralmente el compuesto A1 a los ratones a dosis de 3 mg/kg y 30 mg/kg una vez al día. Entretanto, en un grupo de control positivo, se administró intravenosamente la combinación de 5-fluorouracilo (en adelante denominado "5-FU") y leucovorina (para cada compuesto, 25 mg/kg/inyección) uno, cuatro, siete, y 10 días después de la implantación del tumor. Cuarenta días después de la implantación del tumor C170HM2, se midió el peso del hígado con metástasis del tumor. La administración del compuesto A1 a dosis de 3 mg/kg y 30 mg/kg dio como resultado la inhibición de metástasis del tumor en el hígado en 73% y 81%, respectivamente. En contraste, el porcentaje de inhibición de la metástasis en un grupo de control positivo fue del 63%. Estos datos indican que el compuesto A1 muestra un efecto antimetastásico comparable o mayor que el de un agente quimioterapéutico.

ES 2 341 728 T3

Ejemplo 4

Se inyectaron intraperitonealmente 5×10^5 células de células de cáncer gástrico humano (MGLVA1) en ratones SCID hembra. Después de la implantación, se administró oralmente el compuesto A1 a los ratones a dosis de 3 mg/kg y 30 mg/kg una vez al día. Se evaluó la prolongación del tiempo de supervivencia por el compuesto A1 debido a que este modelo utilizando MGLVA1 era un modelo letal. El día 6 después del inicio de la administración, la tasa de supervivencia fue del 6,7% en un grupo de control, mientras la tasa de supervivencia fue del 46,7% en un grupo con administración del compuesto A1 a una dosis de 30 mg/kg. Estos datos indican que el compuesto A1 muestra el efecto de prolongación del tiempo de supervivencia después de la implantación del tumor.

Ejemplo 5

Se implantaron subcutáneamente 1×10^6 células de células de cáncer de colon humano (HT-29) en el lado derecho del abdomen de ratones carentes de sistema inmunitario Balb/c hembra. A partir de los cuatro días de la implantación del tumor, se administró oralmente el compuesto A1 a los ratones en grupos de administración a dosis de 10, 30, y 100 mg/kg una vez al día durante 17 días. Al día siguiente a la administración, se separó el tumor y se pesó. En un grupo de control, se administró oralmente vehículo a los ratones, y se midió el peso tumoral de una manera similar a la descrita antes. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento del tumor basándose en los pesos tumorales de cada uno de los grupos de administración frente a un grupo de control.

Como resultado, los porcentajes de inhibición de 30 mg/kg y 100 mg/kg de compuesto A1 fueron 44% y 50%, respectivamente. La administración de compuesto A1 inhibió significativamente el crecimiento tumoral de una manera dependiente de la dosis.

Ejemplo 6

Se implantaron subcutáneamente 1×10^6 células de células de cáncer de colon humano (HT-29) en el lado derecho del abdomen de ratones carentes de sistema inmunitario Balb/c hembra. A partir de los 10 días de la implantación del tumor, se administró oralmente el compuesto A1 a ratones en un grupo de administración a una dosis de 30 mg/kg una vez al día durante 12 días.

Con el fin de comparar, se administró intraperitonealmente 5-FU a los ratones de los grupos de control positivo a dosis de 3, 10, y 30 mg/kg una vez al día durante 12 días.

Además, se administró la combinación de compuesto A1 (30 mg/kg) y 5-FU (3, 10, o 30 mg/kg) a los ratones de cada uno de los grupos combinados. Al día siguiente de la administración final, se separó el tumor y se pesó. En un grupo de control, se administró vehículo a los ratones, y se midió el peso del tumor de una manera similar a la descrita antes. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento del tumor basándose en los pesos de los tumores de cada uno de los grupos de administración frente al del grupo de control. El porcentaje de inhibición de la administración individual del compuesto A1 a una dosis de 30 mg/kg fue del 34%. Los porcentajes de inhibición de la administración individual de 5-FU a dosis de 3, 10, y 30 mg/kg fueron del 24%, 30%, y 58%, respectivamente.

Por el contrario, cuando se administraron el compuesto A1 a una dosis de 30 mg/kg y 5-FU a una dosis de 3, 10, o 30 mg/kg combinados, el porcentaje de inhibición fue del 31%, 54%, o 76%, respectivamente. Estos datos indican que la combinación del compuesto A1 y 5-FU muestra un excelente efecto antitumoral.

Ejemplo 7

Se implantó una pequeña porción (70 a 80 mg) de células de cáncer pancreático humano (PANC-1) en el páncreas de ratones SCID hembra (15 ratones por cada grupo). En un grupo de ratones, a partir de los siete días de la implantación, se administró oralmente el compuesto A1 a una dosis de 100 mg/kg una vez al día. En otro grupo de ratones, los días siete, 10, y 14 después de la implantación, se inyectó intravenosamente hidrocóloruro de gemcitabina (Gemzar Inyectable (R)) como control positivo a una dosis de 100 mg/kg. Se evaluó la prolongación del tiempo de supervivencia por el compuesto A1 debido a que este modelo utilizando PANC-1 era un modelo letal. A los cuarenta días del inicio de la administración (a los 46 días de la implantación), la tasa de supervivencia en el grupo de control (administración de vehículo) fue del 46,7%, mientras la tasa de supervivencia en el grupo con administración del compuesto A1 (100 mg/kg) fue del 86,7%. Entretanto, la tasa de supervivencia en el grupo con administración de hidrocóloruro de gemcitabina fue del 93,3%. Estos datos indican que el compuesto A1 confiere una ventaja de supervivencia tras la implantación del tumor comparable a la de un agente quimioterapéutico.

ES 2 341 728 T3

Ejemplo 8

Se implantó una pequeña porción (70 a 80 mg) de células de cáncer pancreático humano (PANC-1) en el páncreas de ratones SCI hembra (15 ratones por cada grupo). En un grupo de ratones, desde los siete días después de la implantación, se administró oralmente compuesto A1 a una dosis de 100 mg/kg una vez al día. En otro grupo de ratones, los días siete, 10, y 14 después de la implantación, se administró intravenosamente hidrocloreuro de gemcitabina (Gemzar Inyectable (R)) a una dosis de 100 mg/kg. Se evaluó la prolongación del tiempo de supervivencia por el compuesto A1 debido a que este modelo que utilizaba PANC-1 era un modelo letal. Como se muestra en la Tabla 1, la administración combinada de hidrocloreuro de gemcitabina ("GEM" en la Tabla 1) (100 mg/kg) y compuesto A1 (100 mg/kg) prolonga el tiempo de supervivencia. Estos datos indican que la administración del compuesto A1 y un agente quimioterapéutico combinados muestra un beneficio de supervivencia después de la implantación del tumor.

TABLA 1

15

	Control	Compuesto A1	GEM (100) × 3	GEM (100) × 3 + compuesto A1 (100)
Días hasta la muerte del último individuo	56	61	54	63*
Promedio días de supervivencia (días)	43	49,5	46,9	50,9
Tiempo medio de supervivencia (días)	39	51	48	54
Tasa de supervivencia (%) a los 50 días del inicio de la administración (56 días después de la implantación)	40	53,3	20	66,7
Tasa de supervivencia (%) a los 60 días del inicio de la administración (66 días después de la implantación)	0	6,7	0	20*
* < 0,05 en comparación con el control (mediante el método de Kaplan-Meier, ensayos log-rango múltiple)				

65

ES 2 341 728 T3

Ejemplo de Ensayo 1

Ensayo de toxicidad a través de la administración oral repetida 28 días a ratas

5 Se administró oralmente el Compuesto A1 a ratas SD macho y hembra de seis semanas de edad a una dosis de 30, 100, 300, o 1.000 mg/kg durante 28 días de manera repetida. No se observaron muertes en ningún grupo, y no se encontraron anomalías en el peso corporal, la ingestión de alimento, el análisis oftalmológico, el análisis de orina, el peso de los ganos, los hallazgos en la autopsia, y el ensayo histopatológico.

10

Ejemplo de Ensayo 2

Ensayo de toxicidad a través de la administración oral repetida 28 días a perros

15 Se administró oralmente el Compuesto A1 a perros beagle macho y hembra de ocho meses de edad a una dosis de 30, 100, 300, o 1.000 mg/kg durante 28 días de una manera repetida. No se observaron muertes en ningún grupo, y no se encontraron anomalías en el peso corporal, la ingestión de alimentos, el análisis oftalmológico, el electrocardiograma, la presión sanguínea, el análisis de orina, el análisis hematológico, el análisis bioquímico de la sangre, el peso de los órganos, y los hallazgos en la autopsia.

20

Ejemplo de Formulación 1

25 Se mezclan uniformemente el compuesto A1 (20 g), lactosa (315 g), almidón de maíz (125 g), y celulosa cristalina (25 g), y se añade solución acuosa de hidroxipropilcelulosa al 7,5% (200 mL) a la mezcla resultante. La mezcla se granula por medio de un granulador por extrusión empleando un tamiz (diámetro de la malla: 0,5 mm), e inmediatamente después de eso, el producto resultante se moldea en forma esférica por medio de un marumerizador, seguido de secado, para dar gránulos.

30

Ejemplo de Formulación 2

35 Se mezclan uniformemente el compuesto A1 (20 g), lactosa (100 g), almidón de maíz (36 g), celulosa cristalina (30 g), carboximetilcelulosa cálcica (10 g), y estearato de magnesio (4 g). La mezcla resultante se forma en comprimidos (200 mg cada uno) por medio de una máquina para formar comprimidos de un solo troquel con una mano de mortero de 7,5 mm de diámetro.

Ejemplo de Formulación 3

40 Se formulan el compuesto A1 (100 mg), acetato de sodio (2 mg), ácido acético (para ajustar el pH a 5,8) (cantidad apropiada), y agua destilada (hasta completar) (total: 10 mL/vial) en un inyectable mediante el método habitual.

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Un agente antitumoral para su uso en el tratamiento y/o prevención del cáncer gastrointestinal, que comprende como ingredientes activos:

(A) un derivado de 1,5-benzodiazepina que es ácido (R)-(-)-3-[3-(1-*tert*-butilcarbonilmetil-2-oxo-5-ciclohexil-1,3,4,5-tetrahidro-2H-1,5-benzodiazepin-3-il)ureido]-benzoico o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y

10 (B) otro agente antitumoral que es un antimetabolito.

2. Un agente antitumoral de acuerdo con la reivindicación 1, donde la sal farmacéuticamente aceptable del derivado de 1,5-benzodiazepina es una sal de calcio.

15 3. El agente antitumoral de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que es un agente para el tratamiento y/o prevención del cáncer pancreático.

20 4. El agente antitumoral de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicho agente antitumoral (B) es la gemcitabina.

5. El agente antitumoral de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde dicho ingrediente (A) es un agente peroral.

25 6. El uso de un derivado de 1,5-benzodiazepina que es ácido (R)-(-)-3-[3-(1-*tert*-butilcarbonilmetil-2-oxo-5-ciclohexil-1,3,4,5-tetrahidro-2H-1,5-benzodiazepin-3-il)ureido]-benzoico o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y

30 (B) otro agente antitumoral que es un antimetabolito, para la producción de un agente antitumoral para el tratamiento y/o prevención del cáncer gastrointestinal.

7. El uso de acuerdo con la reivindicación 6, donde la sal farmacéuticamente aceptable del derivado de 1,5-benzodiazepina es una sal de calcio.

35 8. El uso de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, donde dicho agente antitumoral es un agente para el tratamiento y/o prevención del cáncer pancreático.

40 9. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, donde dicho agente antitumoral (B) es la gemcitabina.

10. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, donde dicho ingrediente (A) es un agente peroral.

45

50

55

60

65