

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 925 197**

51 Int. Cl.:

A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
C07F 9/6512 (2006.01)
C07D 405/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.11.2017 PCT/US2017/059927**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **11.05.2018 WO18085652**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2017 E 17866600 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2022 EP 3535275**

54 Título: **Combinaciones farmacéuticas que comprenden un inhibidor de histona desacetilasa y un inhibidor de BCL-2 y métodos de uso de las mismas**

30 Prioridad:

04.11.2016 US 201662417670 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.10.2022

73 Titular/es:

**ACETYLON PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
70 Fargo Street, Suite 205
Boston, MA 02210-2138, US**

72 Inventor/es:

**MOORE, NATHAN y
MIN, CHENGYIN**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 925 197 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

Combinaciones farmacéuticas que comprenden un inhibidor de histona desacetilasa y un inhibidor de BCL-2 y métodos de uso de las mismas

5

ANTECEDENTES

El documento de Patente US 2015/150871 se refiere a combinaciones que comprenden un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador para el tratamiento de linfoma en un sujeto que lo necesita. Juliana M. Benito *et al.*, Cell Reports, vol. 13, n.º 12, 1 de diciembre de 2015, páginas 2715-2727, XP055694455, US ISSN: 2211 -1247, DOI: 10.1016/j.celrep.2015.12.003 se refiere a un artículo titulado "MLL-Rearranged Acute Lymphoblastic Leukemias Activate BCL-2-Specific Antagonist ABT-199".

10

15

La inhibición de la histona desacetilasa (HDAC) puede causar la detención del crecimiento de las células cancerosas. Sin embargo, la inhibición pan-HDAC conduce a efectos adversos significativos, y es deseable un perfil de inhibición de HDAC alternativo.

20

HDAC6 es una HDAC de clase IIb y se conoce por retirar grupos acetilo de numerosas proteínas celulares, incluyendo α -tubulina y HSP90. Se ha informado que la hiperacetilación de HSP90 desestabiliza sus proteínas diana, incluyendo ER y EGFR. Los inhibidores de HDAC6 tienen una actividad antiproliferativa de cáncer demostrada en diversos tipos de cáncer. Se ha mostrado que el bloqueo de la actividad de HDAC6 causa la inhibición del crecimiento de las células cancerosas a través de diversos mecanismos.

25

A pesar de las numerosas opciones de tratamiento para pacientes de cáncer, aún existe la necesidad de opciones terapéuticas eficaces y seguras. En particular, existe la necesidad de métodos eficaces de tratamiento o prevención de cánceres, especialmente los cánceres que han sido resistentes y/o refractarios a las terapias actuales. Esta necesidad puede satisfacerse mediante el uso de terapias de combinación tales como las descritas en el presente documento.

30

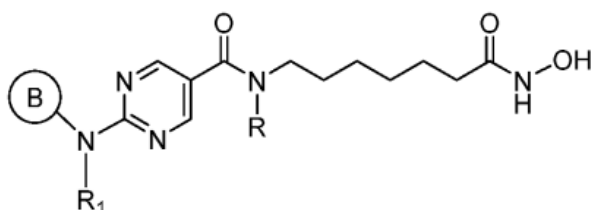
SUMARIO

35

En el presente documento se proporciona una combinación farmacéutica que comprende un inhibidor de histona desacetilasa 6 (denominada "HDAC6" en el presente documento) y un inhibidor de linfoma de linfocitos B 2 (denominado "BCL-2" en el presente documento).

En un aspecto, la invención proporciona en el presente documento una combinación farmacéutica que comprende:

(a) un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I:



40

(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde,

45

el anillo B es arilo o heteroarilo;

R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆;

y

R es H o alquilo C₁₋₆; y

50

(b) un inhibidor de BCL-2, en donde el inhibidor de BCL-2 es 2-((1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahydro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-N-((3-nitro-4-(((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonyl)benzamida (venetoclax) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

55

La invención se define mediante las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que caiga fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona únicamente con fines de información. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a la composición farmacéutica y el medicamento de acuerdo con la presente invención para uso en un método para tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el anillo B es arilo.

5 En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halo.

En una realización de Fórmula I, R₁ es un arilo que está sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆.

10 En otra realización de Fórmula I, R₁ es arilo C₅₋₇ que está sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆.

En otra realización de Fórmula I, R₁ es heteroarilo C₄₋₇ que está sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆.

En otra realización más de Fórmula I, R₁ es fenilo que está sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆.

15 En otra realización más de Fórmula I, R₁ es fenilo que está sustituido con halo.

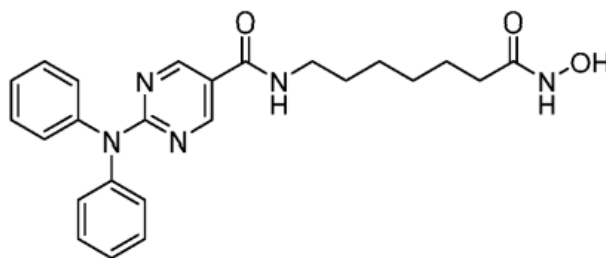
En otra realización más de Fórmula I, R₁ es fenilo que está sustituido con cloro.

20 En otra realización de Fórmula I, el anillo B es arilo C₅₋₇.

En otra realización de Fórmula I, el anillo B es heteroarilo C₄₋₇.

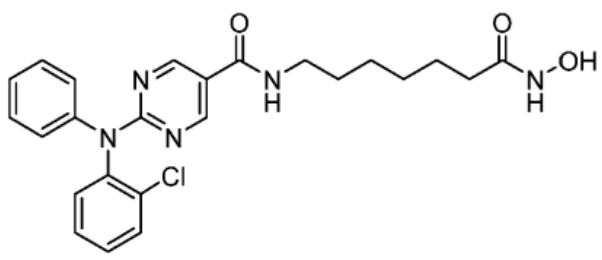
En otra realización más de Fórmula I, el anillo B es fenilo.

25 En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el inhibidor de HDAC6 de Fórmula I es:



30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el inhibidor de HDAC6 de Fórmula I es:



35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-(((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonyl)benzamida (venetoclax) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

40 En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 están en la misma formulación. En otras realizaciones de la combinación farmacéutica, el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 están en formulaciones separadas.

45 En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, la combinación es para administración simultánea o secuencial.

En diversas realizaciones, la combinación farmacéutica es para uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto que lo

necesita.

En otras realizaciones diversas, la combinación farmacéutica es para uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

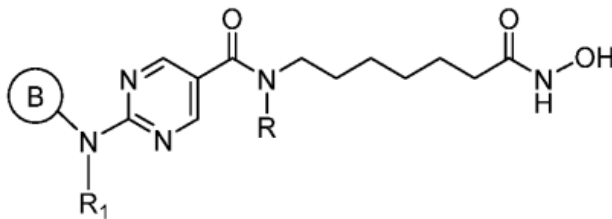
5 En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el cáncer es un cáncer hematológico.

10 En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el cáncer es leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma no Hodgkin (por ejemplo, linfoma de células del manto), mieloma múltiple, o síndrome mielodisplásico (SMD).

En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el cáncer es refractario o resistente al tratamiento con al menos una terapia anterior.

15 En un aspecto, la invención proporciona en el presente documento una cantidad terapéuticamente eficaz de

(a) un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I:



(I)

20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde, el anillo B es arilo o heteroarilo; R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆;
 25 y R es H o alquilo C₁₋₆; y

30 (b) un inhibidor de BCL-2, en donde el inhibidor de BCL-2 es 2-((1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-N-((3-nitro-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonyl)benzamida (venetoclax) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para uso en el tratamiento o prevención de cáncer en un sujeto que lo necesita.

En diversas realizaciones del uso, el cáncer es un cáncer hematológico.

35 En diversas realizaciones del uso, el cáncer es leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma no Hodgkin (por ejemplo, linfoma de células del manto), mieloma múltiple, o síndrome mielodisplásico (SMD).

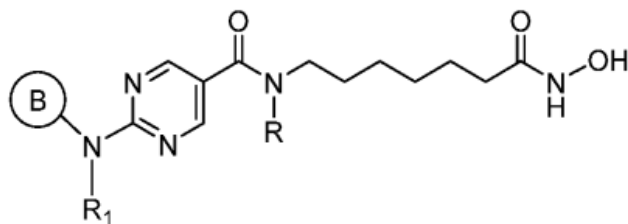
40 En diversas realizaciones del uso, el cáncer es refractario o resistente al tratamiento con al menos una terapia anterior.

En diversas realizaciones del uso, el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 se administran aproximadamente al mismo tiempo. En otras realizaciones del uso, el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 se administran en diferentes momentos.

45 En el presente documento se proporciona una combinación farmacéutica como se describe en el presente documento para uso en un método de disminución de crecimiento y viabilidad de células de leucemia, que comprende poner en contacto la célula con la combinación farmacéutica proporcionada en el presente documento, y en donde la célula es una célula de leucemia.

50 También se desvela una composición farmacéutica que comprende:

(a) un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en donde,

el anillo B es arilo o heteroarilo;

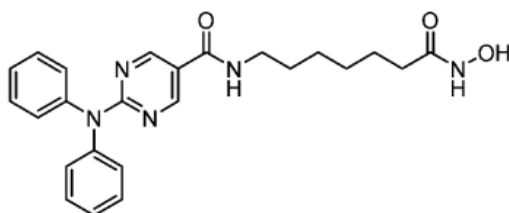
5 R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆;
y
R es H o alquilo C₁₋₆; y

10 (b) un inhibidor de BCL-2.

En una realización de la composición, la composición farmacéutica comprende además uno o más excipientes.

15 En una realización de la composición, el anillo B es arilo. En diversas realizaciones, R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halo.

En otra realización de la composición, el compuesto de Fórmula I es:

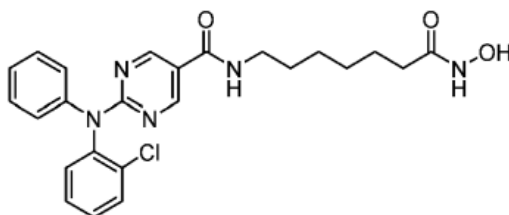


(A)

20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización de la composición, el compuesto de Fórmula I es:



(B)

25

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 El inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-(((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonyl)benzamida (venetoclax) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

35 Las Figuras 1A, 1B, y 1C muestran el porcentaje de viabilidad de las siguientes líneas celulares: MOLM-13 (Figura 1A), Kasumi-1 (Figura 1B), y MV-4-11 (Figura 1C), tras exposición al Compuesto B solo, ABT-199 (también denominado "venetoclax" en el presente documento) solo, o la combinación de Compuesto B y ABT-199 en las concentraciones indicadas.

Las Figuras 2A y 2B muestran la extensión de apoptosis en células MV-4-11 (Figura 2A) y células HL-60 (Figura 2B) medida mediante tinción con Anexina V en función de la administración de Compuesto B solo, ABT-199 (también denominado "venetoclax" en el presente documento) solo, o la combinación de Compuesto B y ABT-199 en las concentraciones indicadas.

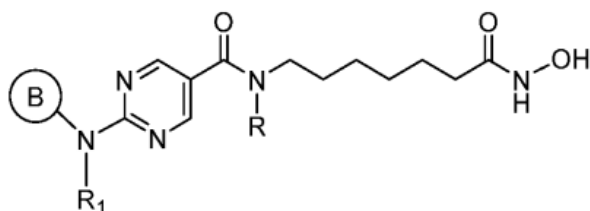
5

DESCRIPCIÓN DETALLADA

En el presente documento se proporciona una combinación farmacéutica que comprende un inhibidor de histona desacetilasa (HDAC) y un inhibidor de BCL-2. Específicamente, en el presente documento se proporciona una combinación farmacéutica que comprende:

10

(a) un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I:



(I)

15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde,

el anillo B es arilo o heteroarilo;

20

R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆;

y

R es H o alquilo C₁₋₆; y

25

(b) un inhibidor de BCL-2, en donde el inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahydro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-((tetrahydro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonyl)benzamida (venetoclax) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30

A continuación, se describen ciertos términos usados en el presente documento. Los compuestos de la presente invención se describen usando nomenclatura convencional. A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente el experto en la materia a la que pertenece la presente invención.

35

El término "alquilo" se refiere a restos hidrocarburo saturados de cadena lineal o ramificada que contienen, en ciertas realizaciones, entre uno y seis, o uno y ocho átomos de carbono, respectivamente. Algunos ejemplos de restos alquilo C₁₋₆ incluyen restos metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, *tert*-butilo, neopentilo, *n*-hexilo; y algunos ejemplos de restos alquilo C₁₋₈ incluyen restos metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, *tert*-butilo, neopentilo, *n*-hexilo, heptilo, y octilo. El número de átomos de carbono en un sustituyente alquilo puede indicarse con el sufijo "C_{x-y}", donde x es el número mínimo e y es el número máximo de átomos de carbono en el sustituyente.

40

Como se usa en el presente documento, el término "halo" o "halógeno", solo o como parte de otro sustituyente, significa, a menos que se indique de otro modo, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo, preferentemente flúor, cloro o bromo, más preferentemente cloro.

45

El término "arilo" se refiere a un sistema anular carbocíclico mono o policíclico que tiene uno o más anillos aromáticos, condensados o no condensados, incluyendo fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, idenilo, y similares. En algunas realizaciones, los grupos arilo tienen 6 átomos de carbono. En algunas realizaciones, los grupos arilo tienen de seis a diez átomos de carbono. En algunas realizaciones, los grupos arilo tienen de seis a dieciséis átomos de carbono. En una realización, se proporcionan grupos arilo C₅-C₇ en el presente documento.

50

El término "heteroarilo" se refiere a un sistema anular o resto mono o policíclico (por ejemplo, bi o tricíclico o más), condensado o no condensado, que tiene al menos un anillo aromático, donde uno o más de los átomos formadores de anillo son un heteroátomo tal como oxígeno, azufre o nitrógeno. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilo tiene aproximadamente de uno a seis átomos de carbono y, en realizaciones adicionales, de uno a quince átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilo contiene de cinco a dieciséis átomos de anillo de los que un átomo de anillo se selecciona entre oxígeno, azufre y nitrógeno; cero, uno, dos o tres átomos de anillo son heteroátomos adicionales seleccionados independientemente entre oxígeno, azufre y nitrógeno; y los átomos de anillo restantes son carbono. Heteroarilo incluye piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo,

55

tiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, indolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, benzimidazolilo, benzoxazolilo, quinoxalinilo, acridinilo, y similares. En una realización, se proporcionan grupos heteroarilo C₄-C₇ en el presente documento.

5 El término "combinación", y las expresiones "combinación terapéutica" o "combinación farmacéutica", como se usan en el presente documento, se refieren a una combinación fija en una forma de dosificación unitaria, o una combinación no fija, o un kit de partes para la administración combinada donde dos o más agentes terapéuticos pueden administrarse independientemente, al mismo tiempo o en intervalos de tiempo separados, especialmente donde estos intervalos de tiempo permiten que los compañeros de combinación muestren un efecto cooperativo, por ejemplo, sinérgico.

10 La expresión "terapia de combinación" se refiere a la administración de dos o más agentes terapéuticos para tratar una afección o trastorno terapéutico descrito en la presente divulgación. Tal administración incluye administración conjunta de estos agentes terapéuticos de forma básicamente simultánea, tal como en una formulación individual que tiene una proporción fija de ingredientes activos o en formulaciones separadas (por ejemplo, cápsulas y/o formulaciones intravenosas) para cada ingrediente activo. Además, tal administración también incluye el uso de cada tipo de agente terapéutico de forma secuencial o separada, aproximadamente en el mismo momento o en momentos diferentes. Independientemente de si los ingredientes activos se administran como una formulación individual o en formulaciones separadas, los fármacos se administran al mismo paciente como parte del mismo curso de terapia. En cualquier caso, el régimen de tratamiento proporcionará efectos beneficiosos en el tratamiento de las afecciones o trastornos descritos en el presente documento.

15 Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a derivados de los compuestos desvelados en donde el compuesto precursor se modifica convirtiendo un resto de ácido o base existente en su forma de sal. Algunos ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de ácidos minerales u orgánicos de restos básicos tales como aminas; sales de álcali u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas convencionales del compuesto precursor formadas, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto precursor que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. En general, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o el ácido apropiados en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, son preferentes medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Se encuentran listas de sales adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, pág. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977). A menos que se especifique de otro modo, o se indique claramente mediante el texto, la referencia a agentes terapéuticos útiles en la combinación farmacéutica proporcionada en el presente documento incluye tanto la base libre de los compuestos como todas las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos.

20 La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico razonable, adecuados para el contacto con los tejidos de un animal de sangre caliente, por ejemplo, un mamífero o un ser humano, sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otras complicaciones o problemas, que se corresponde con una proporción beneficio/riesgo razonable.

25 Las expresiones "combinación fija", "dosis fija" y "formulación individual", como se usan en el presente documento, se refieren a un excipiente o vehículo o forma de dosificación individual formulado para suministrar una cantidad, que es terapéuticamente eficaz en su conjunto para el tratamiento de cáncer, de ambos agentes terapéuticos a un paciente. El vehículo individual se diseña para suministrar una cantidad de cada uno de los agentes, junto con cualquier vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, el vehículo es un comprimido, cápsula, píldora, o un parche. En otras realizaciones, el vehículo es una solución o una suspensión.

30 Las expresiones "combinación no fija", "kit de partes" y "formulaciones separadas" significan que los ingredientes activos, es decir, el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2, se administran a un paciente como entidades separadas de forma simultánea, concurrente o secuencial sin límite de tiempo específico, en donde tal administración proporciona niveles terapéuticamente eficaces de los dos compuestos en el cuerpo del sujeto que lo necesita. Esto último también se aplica a la terapia de cóctel, por ejemplo, la administración de tres o más ingredientes activos.

35 Una "forma de dosificación oral" incluye una forma de dosificación unitaria prescrita o destinada para administración oral. En una realización de las combinaciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento, el inhibidor de HDAC6 (por ejemplo, los Compuestos A o B) se administra en forma de una forma de dosificación oral.

40 El término "tratar" o "tratamiento", como se usa en el presente documento, comprende un tratamiento que alivia, reduce o mitiga al menos un síntoma en un sujeto o que efectúa un retraso del progreso de una enfermedad. Por ejemplo, tratamiento puede ser la disminución de uno o varios síntomas de un trastorno o la erradicación completa

de un trastorno, tal como cáncer.

El término "previene", "prevenir" o "prevención", como se usa en el presente documento, comprende la prevención de al menos un síntoma asociado a o causado por la patología, enfermedad o trastorno que se previene.

La expresión "cantidad farmacéuticamente eficaz", "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad clínicamente eficaz" de una combinación de agentes terapéuticos es una cantidad suficiente para proporcionar una mejora observable o clínicamente significativa con respecto a signos y síntomas basales clínicamente observables de los trastornos tratados con la combinación.

La expresión "activo conjunta y terapéuticamente" o "efecto terapéutico conjunto", como se usa en el presente documento, significa que los agentes terapéuticos pueden administrarse por separado (de forma cronológicamente gradual, especialmente en forma de secuencia específica) en intervalos de tiempo tales como los preferentes, en los animales de sangre caliente, especialmente seres humanos, que se tratan, mostrando aún una interacción (preferentemente sinérgica) (efecto terapéutico conjunto). Puede determinarse si este es el caso, entre otras maneras, siguiendo los niveles sanguíneos de los compuestos, mostrando que ambos compuestos están presentes en la sangre del ser humano que se trata al menos durante ciertos intervalos de tiempo.

El término "sujeto" o "paciente", como se usa en el presente documento, pretende incluir animales, que pueden padecer o están aquejados de un cáncer o cualquier trastorno que implique, directa o indirectamente, un cáncer. Algunos ejemplos de sujetos incluyen mamíferos, por ejemplo, seres humanos, simios, monos, perros, vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, gatos, ratones, conejos, ratas y animales no humanos transgénicos. En una realización, el sujeto es un ser humano, por ejemplo, un ser humano que padece, o se encuentra en riesgo de padecer, o es potencialmente capaz de padecer, cánceres.

Como se usa en el presente documento, el término "resistente" o "refractario" a un agente terapéutico, cuando se refiere a un paciente de cáncer, significa que el cáncer tiene una resistencia innata, o adquirida, a los efectos del agente terapéutico como resultado del contacto con el agente terapéutico. Dicho de otro modo, el cáncer es resistente al estándar habitual de asistencia médica asociada al agente terapéutico particular.

Los términos "comprender" e "incluir" se usan en el presente documento en su sentido indefinido y no limitante a menos que se indique de otro modo.

Se ha de interpretar que, en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones), los términos "un", "una", "uno", "la" y "el" y las referencias similares incluyen tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otro modo en el presente documento o el contexto lo contradiga claramente. Cuando se usa la forma en plural para compuestos, sales y similares, esta se ha de interpretar como un compuesto, sal o similar, individual.

Los expertos en la materia objeto pertinente entienden generalmente los términos "alrededor" o "aproximadamente", pero en ciertas circunstancias pueden significar dentro de un 20 %, dentro de un 10 %, o dentro de un 5 % de un valor o intervalo dado. Alternativamente, especialmente en sistemas biológicos, el término "aproximadamente" significa dentro de aproximadamente un log (es decir, un orden de magnitud) o dentro de un factor de dos de un valor dado.

La expresión "efecto sinérgico", como se usa en el presente documento, se refiere a la acción de dos agentes tales como, por ejemplo, un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un inhibidor de BCL-2 (por ejemplo, venetoclax), para producir un efecto, por ejemplo, ralentizar la progresión sintomática de cáncer o síntomas del mismo, que es mayor que la suma simple de los efectos de cada fármaco administrado por sí mismo. Un efecto sinérgico puede calcularse, por ejemplo, usando métodos adecuados tales como la ecuación Sigmoidea- $E_{m\acute{a}x}$. (Holford, N. H. G. y Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), la ecuación de aditividad de Loewe (Loewe, S. y Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) y la ecuación de efecto de mediana (Chou, T. C. y Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984)). Cada ecuación indicada anteriormente puede aplicarse a datos experimentales para generar un gráfico correspondiente para ayudar a evaluar los efectos de la combinación de fármacos. Los correspondientes gráficos asociados a las ecuaciones indicados anteriormente son la curva de concentración-efecto, curva de isoblograma y curva de índice de combinación, respectivamente. Las combinaciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento exhiben efectos sinérgicos en relación con el crecimiento y viabilidad celulares en relación con líneas celulares de leucemia (véanse, por ejemplo, los Ejemplos 3 y 4). En algunas realizaciones, las combinaciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento se administran en cantidades que dan como resultado efectos sinérgicos. En algunas realizaciones, las combinaciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento se administran en cantidades que dan como resultado más que los efectos aditivos.

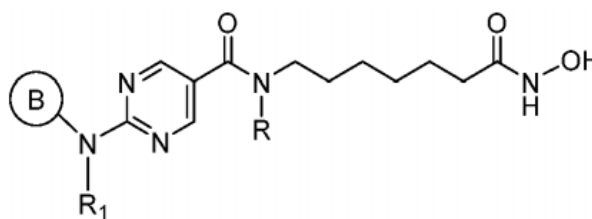
La expresión "histona desacetilasa" o el término "HDAC" se refiere a enzimas que retiran grupos acetilo de restos de lisina en histonas centrales, conduciendo de ese modo a la formación de una cromatina condensada y transcripcionalmente silente. En la actualidad, se conocen 18 histona desacetilasas, que se clasifican en cuatro

5 grupos. Las HDAC de Clase I, que incluyen HDAC1, HDAC2, HDAC3, y HDAC8, están relacionadas con el gen RPD3 de levadura. Las HDAC de Clase II, que incluyen HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9, y HDAC10, están relacionadas con el gen Hda1 de levadura. Las HDAC de Clase III, que también se conocen como sirtuínas, están relacionadas con el gen Sir2 e incluyen SIRT1-7. La HDAC de Clase IV, que contiene solo HDAC11, tiene características de las HDAC de Clase tanto I como II. El término "HDAC" se refiere a una cualquiera o más de las 18 histona desacetilasas conocidas, a menos que se indique de otro modo.

10 La expresión "inhibidor de histona desacetilasa" (inhibidores de HDAC, HDACi, HDI), como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que fija como diana selectivamente, disminuye o inhibe al menos una actividad de una histona desacetilasa.

Inhibidores de histona desacetilasa

15 En el presente documento se proporcionan combinaciones farmacéuticas que comprenden un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I (también denominado "compuestos de Fórmula I" en el presente documento):



(I)

20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
 en donde,
 el anillo B es arilo o heteroarilo;
 R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆;
 y
 25 R es H o alquilo C₁₋₆.

En una realización del compuesto de Fórmula I, el anillo B es arilo. En diversas realizaciones, R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halo.

30 En una realización de Fórmula I, R₁ es un arilo que está sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆.

En otra realización de Fórmula I, R₁ es arilo C₅₋₇ que está sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆.

35 En otra realización de Fórmula I, R₁ es heteroarilo C₄₋₇ que está sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆.

En otra realización más de Fórmula I, R₁ es fenilo que está sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆.

En otra realización más de Fórmula I, R₁ es fenilo que está sustituido con halo.

40 En otra realización más de Fórmula I, R₁ es fenilo que está sustituido con cloro.

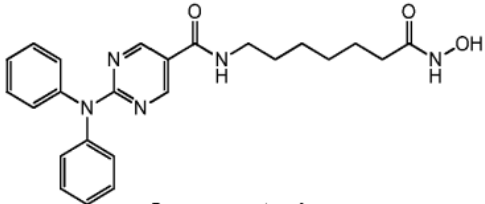
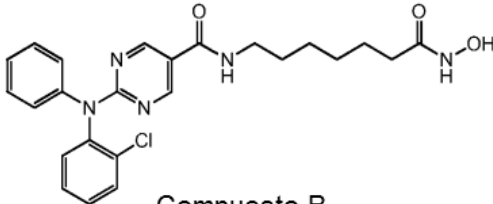
En otra realización de Fórmula I, el anillo B es arilo C₅₋₇.

45 En otra realización de Fórmula I, el anillo B es heteroarilo C₄₋₇.

En otra realización más de Fórmula I, el anillo B es fenilo.

50 En una realización específica, el compuesto de Fórmula I es el Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o el Compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se muestra en la Tabla 1:

Tabla 1.

 <p style="text-align: center;">Compuesto A</p> <p>2-(difenilamino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida CI_{50} (nM) HDAC6 = 10 HDAC3 = 84</p>	 <p style="text-align: center;">Compuesto B</p> <p>2-((2-clorofenil)(fenil)amino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida CI_{50} (nM) HDAC6 = 4 HDAC3 = 76</p>
---	---

Por conveniencia, el grupo de inhibidores de histona desacetilasa 6 de Fórmula I o sus sales se denominan conjuntamente compuestos de Fórmula I, lo que significa que la referencia a los compuestos de Fórmula I se referirá a cualquiera de los compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos en la alternativa.

Los compuestos de Fórmula I (por ejemplo, los Compuestos A y B) se conocen como inhibidores de HDAC6, y se describen en el documento de Publicación PCT n.º WO2011/091213. Los Compuestos A y B se están investigando en la actualidad en desarrollo clínico en Fase 1b para el tratamiento de mieloma múltiple.

En el presente documento, también se describe la preparación de los Compuestos A y B en el Ejemplo 1. Preferentemente, los compuestos A y B están en forma de base libre.

Las sales de los compuestos de Fórmula I son preferentemente sales farmacéuticamente aceptables; los contraiones adecuados que forman las sales farmacéuticamente aceptables se conocen en el campo.

Inhibidores de BCL-2

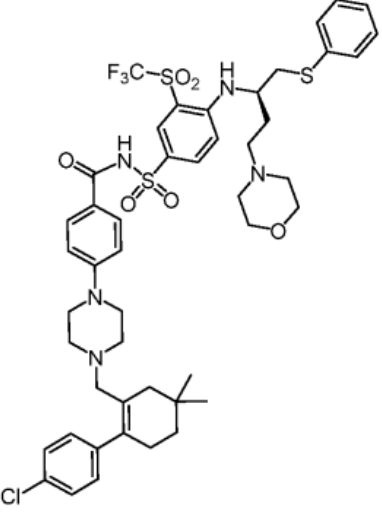
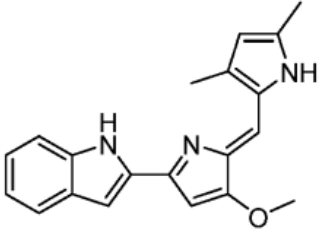
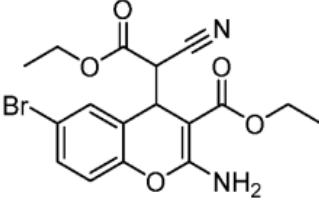
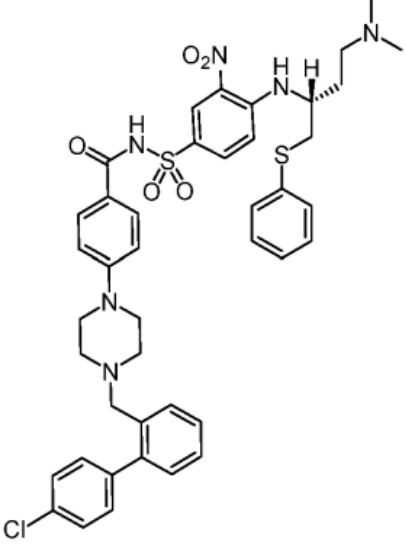
La expresión "inhibidor de BCL-2", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que fija como diana selectivamente, disminuye o inhibe al menos una actividad de BCL-2. La familia de proteínas de linfoma de linfocitos B 2 (Bcl-2) son reguladores clave de la ruta mitocondrial (también denominada "intrínseca") de la apoptosis. Véase, Danial, N. N. y Korsmeyer, S. J. Cell (2004) 116, 205-219. La regulación defectuosa de BCL-2 está implicada en una gran diversidad de cánceres, particularmente cánceres hematológicos tales como linfoma folicular, linfoma macrocítico difuso y leucemia linfocítica crónica. Adams, J. M. y Cory, S. Science (1998) 281, 1322-1326.

Algunos ejemplos de inhibidores de BCL-2 incluyen, por ejemplo, 4-[4-[[2-(4-clorofenil)-5,5-dimetil-1-ciclohexen-1-il]metil]-1-piperazinil]-N-[[4-[[[(1R)-3-(4-morfolinil)-1-[(feniltio)metil]propil]amino]-3-[(trifluorometil)sulfonil]fenil]sulfonil]benzamida (navitoclax o ABT-263); tetrocarcina A; antimicina; gosipol (por ejemplo, (-)-gosipol ácido acético); obatoclax (GX15-070); 2-amino-6-bromo-4-(1-ciano-2-etoxi-2-oxoetil)-4H-cromeno-3-carboxilato de etilo (HA 14-1); oblimersenio; un péptido Bak BH3; 4-[4-[(4'-cloro[1,1'-bifenil]-2-il)metil]-1-piperazinil]-N-[[4-[[[(1R)-3-(dimetilamino)-1-[(feniltio)metil]propil]amino]-3-nitrofenil]sulfonil]-benzamida (ABT-737); 2-((1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il)oxi)-4-(4-(4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-N-((3-nitro-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonil)benzamida (venetoclax); y S55746 (BCL201).

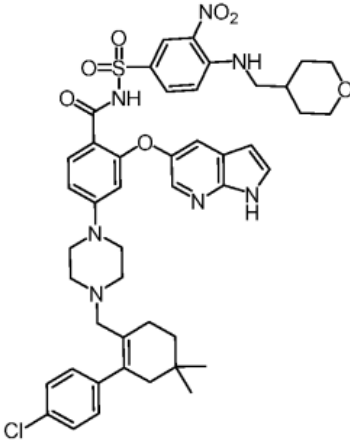
Puede usarse venetoclax en las combinaciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento.

En la Tabla 2 se muestran las estructuras de ciertos inhibidores de BCL-2:

Tabla 2.

Inhibidor de BCL-2	Estructura
navitoclax	 <p>The chemical structure of navitoclax is a complex molecule. It features a central piperazine ring. One nitrogen of the piperazine is substituted with a 4-(4-chlorophenyl)phenylmethyl group. The other nitrogen is substituted with a 4-(4-(trifluoromethylsulfonyl)phenyl)phenylmethyl group. Additionally, the piperazine ring is linked to a 2-(4-phenylbutyl)pyrrolidine ring system.</p>
obatoclax	 <p>The chemical structure of obatoclax consists of an indole ring system. The 2-position of the indole is substituted with a 4-methoxy-5-methyl-1H-imidazole-2-ylmethyl group.</p>
HA 14-1	 <p>The chemical structure of HA 14-1 is a coumarin derivative. It has a bromine atom at the 7-position, an amino group at the 4-position, and a cyano group at the 3-position. The 2-position is substituted with an ethyl ester group, and the 6-position is substituted with another ethyl ester group.</p>
ABT-737	 <p>The chemical structure of ABT-737 is a complex molecule. It features a central piperazine ring. One nitrogen of the piperazine is substituted with a 4-(4-chlorophenyl)phenylmethyl group. The other nitrogen is substituted with a 4-(4-(nitrophenyl)phenyl)phenylmethyl group. Additionally, the piperazine ring is linked to a 2-(4-phenylbutyl)pyrrolidine ring system.</p>

(continuación)

Inhibidor de BCL-2	Estructura
venetoclax	 <p>The image shows the chemical structure of venetoclax. It features a central piperazine ring. One nitrogen of the piperazine is substituted with a 4-chlorophenyl group. The other nitrogen is substituted with a 4-(4-(2-(4-(4-chlorophenyl)-6-methyl-1,3-dioxane-5-yl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyridin-5-yl)phenoxy)phenyl group. The para position of this phenyl ring is further substituted with a 2-(4-(4-(2-(4-(4-chlorophenyl)-6-methyl-1,3-dioxane-5-yl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyridin-5-yl)phenoxy)phenyl)acetamido group. The para position of this acetamido group is substituted with a 4-nitrophenyl group.</p>

El inhibidor de BCL-2 es venetoclax (también denominado "ABT-199"), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Venetoclax está aprobado por la FDA para el tratamiento de pacientes con leucemia linfocítica crónica (LLC) con deleción 17p, detectada mediante un ensayo aprobado por la FDA, que habían recibido al menos una terapia anterior (véase, por ejemplo, el prospecto de la FDA para VENCLEXTA™ http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/208573s000lbl.pdf).

10 Los datos proporcionados en el presente documento muestran que la terapia de combinación proporcionada en el presente documento (por ejemplo, inhibidores de HDAC6 y un inhibidor de BCL-2) redujo sinérgicamente la viabilidad de ciertas líneas celulares de cáncer (véase, por ejemplo, el Ejemplo 3). Además, la terapia de combinación proporcionada en el presente documento aumenta sinérgicamente la apoptosis de ciertas líneas celulares de cáncer (véase, por ejemplo, el Ejemplo 4).

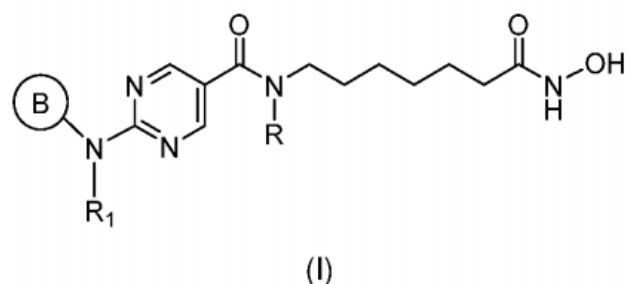
15 Los compuestos de Fórmula I o el inhibidor de BCL-2, o ambos, pueden administrarse en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable.

20 En el presente documento también se proporciona un envase comercial que comprende, como agentes terapéuticos, la combinación proporcionada en el presente documento, junto con instrucciones para administración simultánea, separada o secuencial de los mismos para uso en el retraso de progreso o el tratamiento de un cáncer.

25 Usos para tratamiento

En el presente documento se proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación farmacéutica proporcionada en el presente documento, es decir, una combinación farmacéutica que comprende:

30 (a) un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I:



35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde, el anillo B es arilo o heteroarilo; R1 es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆;

y

R es H o alquilo C₁₋₆; y

5 (b) un inhibidor de BCL-2, en donde el inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-(4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonil)benzamida (venetoclax) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento o prevención de cáncer en un sujeto que lo necesita.

10 En una realización específica de los usos, el inhibidor de HDAC6 es el Compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 Los usos proporcionados en el presente documento pueden usarse tanto para tumores sólidos como para tumores líquidos. Además, dependiendo del tipo de tumor y la combinación particular usada, puede obtenerse una disminución del volumen tumoral. La combinación desvelada en el presente documento también es adecuada para prevenir la extensión metastásica de tumores y el crecimiento o desarrollo de micrometástasis. La combinación desvelada en el presente documento es adecuada para el tratamiento de pacientes con mal pronóstico.

20 En diversas realizaciones del uso, el cáncer es un cáncer hematológico. Los cánceres hematológicos incluyen leucemias, linfomas y mielomas.

En diversas realizaciones del uso, el cáncer es leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, o síndrome mielodisplásico (SMD). En una realización más, el cáncer es linfoma de células del manto (LCM). En otra realización más, el cáncer es un linfoma de linfocitos B.

25 En diversas realizaciones del uso, el cáncer es refractario o resistente al tratamiento con al menos una terapia anterior.

30 En el presente documento se desvela un método para tratar un cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de HDAC de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de BCL-2. En el presente documento se desvela un método para tratar un cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de BCL-2.

35 En el presente documento se desvela un método para tratar un cáncer hematológico en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de HDAC de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de BCL-2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En el presente documento se desvela un método para tratar un cáncer hematológico en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de BCL-2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 En el presente documento se desvela un método para tratar una leucemia en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de HDAC de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de BCL-2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En el presente documento se desvela un método para tratar una leucemia en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de BCL-2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 Se desvela un método para tratar un cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de venetoclax, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Esta realización exhibe sinergia, de modo que pueden usarse en el método cantidades subterapéuticas de Compuesto A o de venetoclax.

50 Se desvela un método para tratar un cáncer hematológico en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de venetoclax, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

55 Se desvela un método para tratar una leucemia en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de venetoclax, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

60 En el presente documento se desvela un método para tratar un cáncer hematológico en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto B, o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de BCL-2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En el presente documento se desvela un método para tratar una leucemia en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de BCL-2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Se desvela un método para tratar un cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de venetoclax, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Esta realización exhibe sinergia, de modo que pueden usarse en el método cantidades subterapéuticas de Compuesto B o de venetoclax.

15 Se desvela un método para tratar un cáncer hematológico en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de venetoclax, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 Se desvela un método para tratar una leucemia en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de venetoclax, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

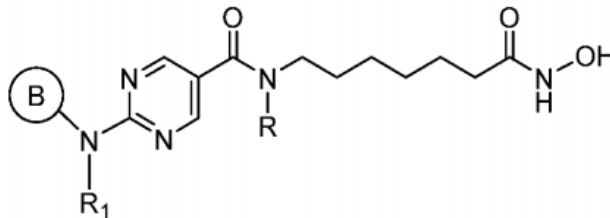
25 El sujeto considerado en el presente documento es habitualmente un ser humano. Sin embargo, el sujeto puede ser cualquier mamífero para el que se desee tratamiento. De ese modo, los usos descritos en el presente documento pueden aplicarse a aplicaciones tanto humanas como veterinarias.

Combinaciones y composiciones farmacéuticas

30 En el presente documento se proporciona una combinación farmacéutica que comprende un inhibidor de histona desacetilasa (HDAC) y un inhibidor de BCL-2.

En un aspecto, en el presente documento se proporciona una combinación farmacéutica que comprende:

35 (a) un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I:



(I)

40 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde, el anillo B es arilo o heteroarilo; R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆; y R es H o alquilo C₁₋₆; y

45 (b) un inhibidor de BCL-2, en donde el inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-(((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonil)benzamida (venetoclax), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

50 En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el anillo B es arilo.

En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halo.

55 En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el compuesto de Fórmula I es el Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización, el compuesto de Fórmula I es el Compuesto B, o una

sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-(((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonyl)benzamida (venetoclax) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

En una realización específica de la combinación farmacéutica, el inhibidor de HDAC6 es el Compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 están en la misma formulación. En otras realizaciones de la combinación farmacéutica, el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 están en formulaciones separadas.

En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, la combinación es para administración simultánea o secuencial.

En diversas realizaciones, la combinación farmacéutica es para uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita.

En una realización, la combinación de la invención se usa para el tratamiento o prevención de cáncer que comprende administrar al sujeto una terapia de combinación, que comprende una cantidad eficaz del inhibidor de HDAC6 (es decir, los compuestos de Fórmula I) y una cantidad eficaz del inhibidor de BCL-2. Preferentemente, estos compuestos se administran en dosificaciones terapéuticamente eficaces que, cuando se combinan, proporcionan un efecto beneficioso. La administración puede comprender la administración separada de cada componente, simultánea o secuencialmente.

En diversas realizaciones, la combinación farmacéutica es para uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de cáncer. En una realización más, la combinación farmacéutica es para uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

La combinación farmacéutica proporcionada en el presente documento también puede inhibir el crecimiento tanto de tumores sólidos como de tumores líquidos. Además, dependiendo del tipo de tumor y la combinación particular usada, puede obtenerse una disminución del volumen tumoral. La combinación desvelada en el presente documento también es adecuada para prevenir la extensión metastásica de tumores y el crecimiento o desarrollo de micrometástasis. La combinación desvelada en el presente documento es adecuada para el tratamiento de pacientes con mal pronóstico.

En otras realizaciones diversas, la combinación farmacéutica es para uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el cáncer es un cáncer hematológico. Los cánceres hematológicos incluyen leucemias, linfomas y mielomas.

En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el cáncer es leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, o síndrome mielodisplásico (SMD). En una realización más, el cáncer es linfoma de células del manto (LCM). En otra realización más, el cáncer es un linfoma de linfocitos B.

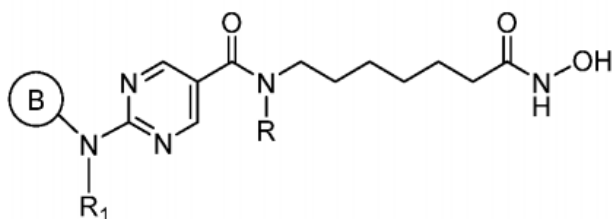
En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el cáncer es refractario o resistente al tratamiento con al menos una terapia anterior.

En el presente documento se proporcionan combinaciones farmacéuticas que comprenden un inhibidor de histona desacetilasa (HDAC) y un inhibidor de BCL-2.

Como se usa en el presente documento, la expresión "composición farmacéutica" se define en el presente documento para referirse a una mezcla o solución que contiene el agente o agentes terapéuticos que se administran a un sujeto, por ejemplo, un mamífero o ser humano, con el fin de prevenir o tratar una enfermedad o afección particular que afecta al mamífero.

En el presente documento se proporciona una combinación farmacéutica que comprende:

(a) un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en donde,

5 el anillo B es arilo o heteroarilo;

R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆;

y

R es H o alquilo C₁₋₆; y

10 (b) un inhibidor de BCL-2 en donde el inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-(((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonil)benzamida (venetoclax) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En una realización de la composición, el anillo B es arilo. En diversas realizaciones, R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halo.

En otra realización de la composición, el compuesto de Fórmula I es el Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización de la composición, el compuesto de Fórmula I es el Compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 El inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-(((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonil)benzamida (venetoclax) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

25 En una realización específica de la composición, el compuesto de Fórmula I es el Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización específica de la composición, el compuesto de Fórmula I es el Compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 En una realización de la composición, la composición farmacéutica comprende además uno o más excipientes. Como se usa en el presente documento, la expresión "excipiente farmacéuticamente aceptable" o "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, tensoactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes de retraso de absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizantes de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de disgregación, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes, y similares y combinaciones de los mismos, bien conocidos por los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a Ed. Mack Printing Company, 1990, pág. 1289-1329). Siempre que cualquier vehículo convencional sea compatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

La composición farmacéutica puede contener de aproximadamente un 0,1 % a aproximadamente un 99,9 %, preferentemente de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 60 % del agente o agentes terapéuticos.

45 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la terapia de combinación para administración enteral o parenteral son, por ejemplo, aquellas en formas de dosificación unitarias, tales como comprimidos revestidos con azúcar, comprimidos, cápsulas o supositorios, o ampollas. Si no se indica de otro modo, estas se preparan de forma conocida en sí misma, por ejemplo por medio de diversos procesos convencionales de mezcla, trituración, compresión directa, granulación, revestimiento con azúcar, disolución, liofilización, granulación en estado fundido, o técnicas de fabricación muy evidentes para los expertos en la materia. Se ha de entender que el contenido unitario de un compañero de combinación contenido en una dosis individual de cada forma de dosificación no necesita constituir en sí mismo una cantidad eficaz dado que la cantidad eficaz necesaria puede alcanzarse por administración de una pluralidad de unidades de dosificación.

Administración/dosis

El uso para tratar cáncer de acuerdo con la presente divulgación proporcionado en el presente documento puede comprender (i) administración del inhibidor de HDAC6 (a) en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable y (ii) administración del inhibidor de BCL-2 (b) en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable simultánea o secuencialmente, en cualquier orden, en cantidades terapéutica y conjuntamente eficaces, preferentemente en cantidades sinérgicamente eficaces, por ejemplo, en dosificaciones diarias o intermitentes. Los compañeros de combinación individuales de la combinación farmacéutica proporcionada en el presente documento pueden administrarse por separado en diferentes momentos durante el curso de la terapia o simultáneamente en formas de combinación divididas o individuales. Por tanto, se ha de entender que el uso proporcionado en el presente documento incluye la totalidad de tales regímenes de tratamiento simultáneo o alternante y el término "administrar" se ha de interpretar en consecuencia.

Por ejemplo, en una realización del uso, el inhibidor de HDAC6 se administra primero, seguido del inhibidor de BCL-2. En otra realización del uso, el inhibidor de BCL-2 se administra primero, seguido del inhibidor de HDAC6.

Los compuestos de Fórmula I pueden administrarse por vía oral en una cantidad de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1000 mg (incluyendo, por ejemplo, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 500 mg, por día en dosis individuales o múltiples. De ese modo, en una realización de los usos para el tratamiento proporcionado en el presente documento, el compuesto de Fórmula I se administra con una dosificación de aproximadamente 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 110 mg, 120 mg, 130 mg, 140 mg, 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, 190 mg, 200 mg, 210 mg, 220 mg, 230 mg, 240 mg, 250 mg, 260 mg, 270 mg, 280 mg, 290 mg, 300 mg, 310 mg, 320 mg, 330 mg, 340 mg, 350 mg, 360 mg, 370 mg, 380 mg, 390 mg, 400 mg, 410 mg, 420 mg, 430 mg, 440 mg, 450 mg, 460 mg, 470 mg, 480 mg, 490 mg, o 500 mg por día. En una realización más, el compuesto de Fórmula I se administra con una dosificación de aproximadamente 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 110 mg, 120 mg, 130 mg, 140 mg, 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, 190 mg, o 200 mg por día. En una realización de la combinación farmacéutica, el Compuesto A está en una cantidad de aproximadamente 600 mg a 3000 mg (por ejemplo, aproximadamente 600, aproximadamente 800, aproximadamente 1000, aproximadamente 1200, aproximadamente 1400, aproximadamente 1600, aproximadamente 1800, aproximadamente 2000 mg). En una realización más de la combinación farmacéutica, el Compuesto A está en una cantidad de aproximadamente 600 mg a 2000 mg. En una realización preferente de la combinación farmacéutica, el Compuesto A está en una cantidad de aproximadamente 180 mg a 480 mg.

En otra realización de la combinación farmacéutica, el Compuesto A está en una cantidad de aproximadamente 5 mg a 600 mg (por ejemplo, aproximadamente 5, aproximadamente 25, aproximadamente 50, aproximadamente 100, aproximadamente 200, aproximadamente 300, aproximadamente 400, aproximadamente 500, aproximadamente 600 mg). En otra realización de la combinación farmacéutica el Compuesto A está de 10 mg a 200 mg.

En una realización de la combinación farmacéutica, el Compuesto B está en una cantidad de aproximadamente 600 mg a 3000 mg (por ejemplo, aproximadamente 600, aproximadamente 800, aproximadamente 1000, aproximadamente 1200, aproximadamente 1400, aproximadamente 1600, aproximadamente 1800, aproximadamente 2000 mg). En una realización más de la combinación farmacéutica, el Compuesto B está en una cantidad de aproximadamente 600 mg a 2000 mg. En una realización preferente de la combinación farmacéutica, el Compuesto B está en una cantidad de aproximadamente 180 mg a 480 mg.

En otra realización de la combinación farmacéutica, el Compuesto B está en una cantidad de aproximadamente 5 mg a 600 mg (por ejemplo, aproximadamente 5, aproximadamente 25, aproximadamente 50, aproximadamente 100, aproximadamente 200, aproximadamente 300, aproximadamente 400, aproximadamente 500, aproximadamente 600 mg). En otra realización de la combinación farmacéutica el Compuesto B está de 10 mg a 200 mg.

En una realización de la terapia de combinación proporcionada en el presente documento, se administra venetoclax por vía oral. En una realización más, la dosificación diaria de venetoclax está entre aproximadamente 10 y aproximadamente 500 mg por día (incluyendo por ejemplo, aproximadamente 10 mg a aproximadamente 400 mg, aproximadamente 10 mg a aproximadamente 300 mg, o aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg) por día en dosis múltiples u individuales.

En otras realizaciones de la terapia de combinación proporcionada en el presente documento, el inhibidor de BCL-2 (venetoclax) se administra con una dosificación de aproximadamente 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 110 mg, 120 mg, 130 mg, 140 mg, 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, 190 mg, 200 mg, 210 mg, 220 mg, 230 mg, 240 mg, 250 mg, 260 mg, 270 mg, 280 mg, 290 mg, 300 mg, 310 mg, 320 mg, 330 mg, 340 mg, 350 mg, 360 mg, 370 mg, 380 mg, 390 mg, 400 mg, 410 mg, 420 mg, 430 mg, 440 mg, 450 mg, 460 mg, 470 mg, 480 mg, 490 mg, o 500 mg por día. En una realización más, el inhibidor de BCL-2 se administra con una dosificación de aproximadamente 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 110 mg, 120 mg, 130 mg, 140 mg, 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, o 200 mg por día. En una realización

de la combinación farmacéutica, la proporción del compuesto de Fórmula I con respecto al inhibidor de BCL-2 está en el intervalo de 700:1-1:40. En otra realización, la proporción del compuesto de Fórmula I con respecto al inhibidor de BCL-2 está en el intervalo de 2:1 a 1:2, por ejemplo, 2:1, 1:1, o 1:2; 170:1 a 150:1, por ejemplo, 170:1, 160:1 o 150:1; 3:1 a 1:1, por ejemplo, 3:1, 2:1 o 1:1; 4:1 a 1:1, por ejemplo, 4:1, 3:1, 2:1 o 1:1; o 30:1 a 10:1, por ejemplo, 30:1, 20:1 o 10:1.

En otra realización de la combinación farmacéutica, la proporción del Compuesto A con respecto al inhibidor de BCL-2 está en el intervalo de 700:1-1:40. En otra realización, la proporción del Compuesto A con respecto al inhibidor de BCL-2 está en el intervalo de 2:1 a 1:2, por ejemplo, 2:1, 1:1, o 1:2; 170:1 a 150:1, por ejemplo, 170:1, 160:1 o 150:1; 3:1 a 1:1, por ejemplo, 3:1, 2:1 o 1:1; 4:1 a 1:1, por ejemplo, 4:1, 3:1, 2:1 o 1:1; o 30:1 a 10:1, por ejemplo, 30:1, 20:1 o 10:1.

En otra realización de la combinación farmacéutica, la proporción del Compuesto B con respecto al inhibidor de BCL-2 está en el intervalo de 700:1-1:40. En otra realización, la proporción del Compuesto B con respecto al inhibidor de BCL-2 está en el intervalo de 2:1 a 1:2, por ejemplo, 2:1, 1:1, o 1:2; 170:1 a 150:1, por ejemplo, 170:1, 160:1 o 150:1; 3:1 a 1:1, por ejemplo, 3:1, 2:1 o 1:1; o 30:1 a 10:1, por ejemplo, 30:1, 20:1 o 10:1.

En otra realización de la combinación farmacéutica, la proporción del Compuesto A con respecto al venetoclax está en el intervalo de 700:1-1:40. En otra realización, la proporción del Compuesto A con respecto al venetoclax está en el intervalo de 2:1 a 1:2, por ejemplo, 2:1, 1:1, o 1:2; 170:1 a 150:1, por ejemplo, 170:1, 160:1 o 150:1; 3:1 a 1:1, por ejemplo, 3:1, 2:1 o 1:1; o 30:1 a 10:1, por ejemplo, 30:1, 20:1 o 10:1.

En otra realización de la combinación farmacéutica, la proporción del Compuesto B con respecto al venetoclax está en el intervalo de 700:1-1:40. En otra realización, la proporción del Compuesto B con respecto al venetoclax está en el intervalo de 2:1 a 1:2, por ejemplo, 2:1, 1:1, o 1:2; 170:1 a 150:1, por ejemplo, 170:1, 160:1 o 150:1; 3:1 a 1:1, por ejemplo, 3:1, 2:1 o 1:1; o 30:1 a 10:1, por ejemplo, 30:1, 20:1 o 10:1.

Puede mostrarse mediante modelos de ensayo establecidos que una combinación farmacéutica proporcionada en el presente documento da como resultado los efectos beneficiosos descritos anteriormente en el presente documento. El experto en la materia está completamente capacitado para seleccionar el modelo de ensayo pertinente para probar tales efectos beneficiosos. La actividad farmacológica de las combinaciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento puede demostrarse, por ejemplo, en un estudio clínico o en un modelo animal.

En una realización, la combinación o composición farmacéutica, o ambas, proporcionadas en el presente documento, presentan un efecto sinérgico.

En una realización más, en el presente documento se proporciona una combinación sinérgica para administración a un sujeto que comprende la combinación de la invención, donde el intervalo de dosis de cada componente corresponde a los intervalos sinérgicos sugeridos en un modelo tumoral o estudio clínico adecuado.

En la determinación de una interacción sinérgica entre uno o más componentes, el intervalo óptimo para el efecto y los intervalos de dosis absoluta de cada componente para el efecto pueden medirse definitivamente mediante administración de los componentes en intervalos de proporción p/p y dosis diferentes a pacientes con necesidad de tratamiento. Para seres humanos, la complejidad y coste de realizar estudios clínicos en pacientes puede hacer que no sea práctico el uso de esta forma de ensayo como modelo primario de sinergia. Sin embargo, la observación de sinergia en ciertos experimentos puede ser predictiva del efecto en otras especies, y existen modelos animales que pueden usarse para cuantificar adicionalmente un efecto sinérgico. Los resultados de tales estudios también pueden usarse para predecir intervalos de proporción de dosis eficaz y las dosis absolutas y concentraciones en plasma.

En una realización más, en el presente documento se proporciona una combinación sinérgica para administración a un sujeto que comprende la combinación de la invención, donde el intervalo de dosificación de cada componente corresponde a los intervalos sinérgicos sugeridos en un modelo tumoral o estudio clínico adecuado.

La dosificación eficaz de cada uno de los compañeros de combinación empleados en la combinación de la invención puede variar dependiendo del compuesto particular o la composición farmacéutica empleada, el modo de administración, la afección que se trata, y la gravedad de la afección que se trata. De ese modo, el régimen de dosificación de la combinación de la invención se selecciona de acuerdo con una diversidad de factores que incluyen la ruta de administración y la función renal y hepática del paciente.

Las proporciones, dosificaciones individuales y combinadas y concentraciones óptimas de los compañeros de combinación (por ejemplo, el compuesto de Fórmula I y el inhibidor de BCL-2) de la combinación proporcionada en el presente documento que proporcionan eficacia sin toxicidad se basan en la cinética de la disponibilidad de los agentes terapéuticos en los sitios diana, y se determinan usando métodos conocidos por los expertos en la materia.

La dosificación eficaz de cada uno de los compañeros de combinación puede requerir administración más frecuente de uno de los compuestos en comparación con los otros compuestos de la combinación. Por tanto, para permitir una

dosificación apropiada, los productos farmacéuticos envasados pueden contener una o más formas de dosificación que contengan la combinación de compuestos, y una o más formas de dosificación que contengan uno de los compuestos, pero no el otro compuesto de la combinación.

5 Cuando los compañeros de combinación que se emplean en la combinación de la invención se aplican en la forma comercializada como fármacos individuales, su dosificación y modo de administración puede ser de acuerdo con la información proporcionada en el prospecto del respectivo fármaco comercializado, si no se menciona de otro modo en el presente documento.

10 La dosificación óptima de cada compañero de combinación para el tratamiento de un cáncer puede determinarse empíricamente para cada individuo usando métodos conocidos y dependerá de una diversidad de factores, que incluyen: el grado de avance de la enfermedad; la edad, peso corporal, estado general de salud, género y dieta del individuo; el momento y la ruta de administración; y otras medicaciones que esté tomando el individuo. Las dosificaciones óptimas pueden establecerse usando ensayos y procedimientos rutinarios que se conocen bien en la técnica.

15 La cantidad de cada compañero de combinación que puede combinarse con los materiales de vehículo para producir una forma de dosificación individual variará dependiendo del individuo tratado y el modo particular de administración. En algunas realizaciones, las formas de dosificación unitarias que contienen la combinación de agentes descrita en el presente documento contendrán las cantidades de cada agente de la combinación que se administran habitualmente cuando los agentes se administran solos.

20 La frecuencia de dosificación variará dependiendo del compuesto usado y la afección particular que se trata o previene. Generalmente, los pacientes pueden monitorizarse para eficacia terapéutica usando ensayos adecuados para la afección que se trata o previene, que serán familiares para los expertos habituales en la materia. En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 están en la misma formulación. Alternativamente, el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 están en formulaciones separadas.

25 En diversas realizaciones de la combinación farmacéutica, la combinación es para administración simultánea o secuencial.

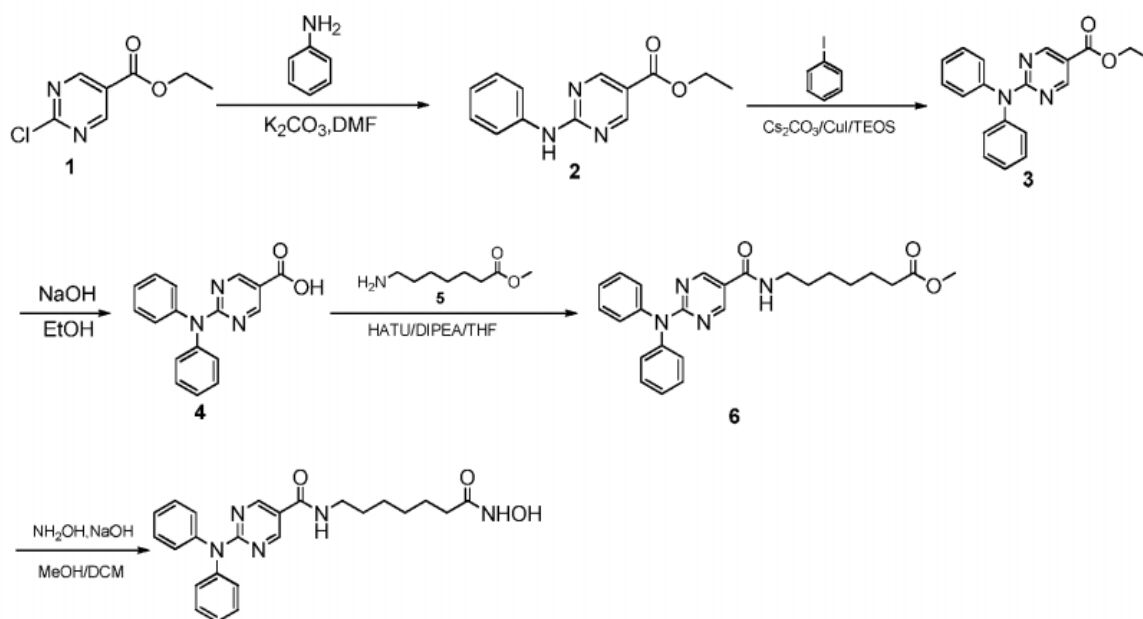
30 A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento están de acuerdo con el significado conocido habitualmente por el experto habitual en la materia.

35 EJEMPLOS

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención descrita anteriormente; sin embargo, no ha de interpretarse que limiten el alcance de la invención en modo alguno. Los efectos beneficiosos de la combinación farmacéutica de la presente invención también pueden determinarse mediante otros modelos de ensayo conocidos por los expertos en la materia pertinente.

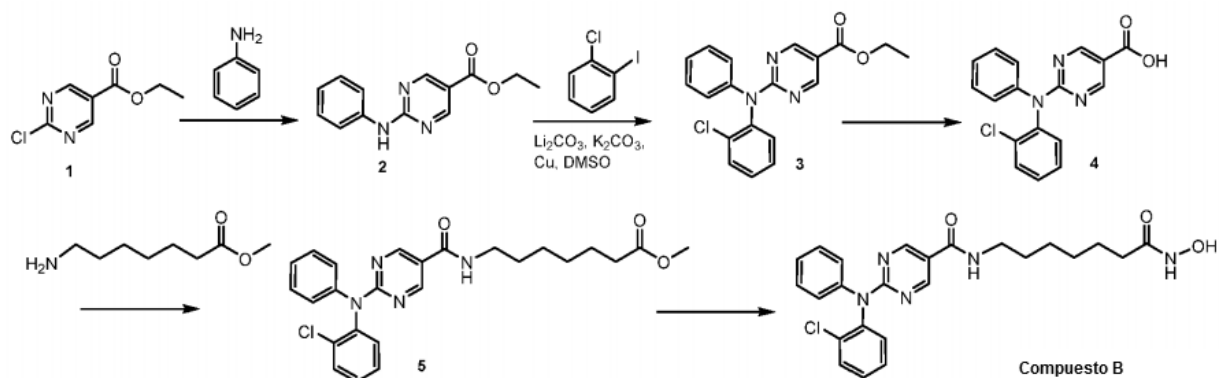
Ejemplo 1: Síntesis de 2-(difenilamino)-*N*-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida (Compuesto A) y 2-((2-clorofenil)(fenil)amino)-*N*-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida (Compuesto B)

45 I. Síntesis de 2-(difenilamino)-*N*-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida (Compuesto A):



- 5 *Síntesis del Intermedio 2:* se desgasificó una mezcla de anilina (3,7 g, 40 mmol), compuesto 1 (7,5 g, 40 mmol) y K_2CO_3 (11 g, 80 mmol) en DMF (100 ml) y se agitó a 120 °C en atmósfera de N_2 durante una noche. La mezcla de reacción se enfrió a t.a. y se diluyó con EtOAc (200 ml), y a continuación se lavó con solución salina saturada (200 ml x 3). Las fases orgánicas se separaron y se secaron sobre Na_2SO_4 , se evaporaron hasta sequedad y se purificaron por cromatografía sobre gel de sílice (éteres de petróleo/EtOAc = 10/1) para dar el producto deseado en forma de un sólido blanco (6,2 g, 64 %).
- 10 *Síntesis del Intermedio 3:* se desgasificó una mezcla de compuesto 2 (6,2 g, 25 mmol), yodobenceno (6,12 g, 30 mmol), CuI (955 mg, 5,0 mmol), Cs_2CO_3 (16,3 g, 50 mmol) en TEOS (200 ml) y se purgó con nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 140 °C durante 14 h. Después de enfriar a t.a., el residuo se diluyó con EtOAc (200 ml). Se añadieron EtOH al 95 % (200 ml) y NH_4F-H_2O sobre gel de sílice [50 g, preparado previamente mediante la adición de NH_4F (100 g) en agua (1500 ml) a gel de sílice (500 g, malla 100-200)], y la mezcla resultante se mantuvo a t.a. durante 2 h. Los materiales solidificados se filtraron y se lavaron con EtOAc. El filtrado se evaporó hasta sequedad y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éteres de petróleo/EtOAc = 10/1) para dar un sólido amarillo (3 g, 38 %).
- 15 *Síntesis del Intermedio 4:* se añadió NaOH 2 N (200 ml) a una solución de compuesto 3 (3,0 g, 9,4 mmol) en EtOH (200 ml). La mezcla se agitó a 60 °C durante 30 min. Después de la evaporación del disolvente, la solución se neutralizó con HCl 2 N para dar un precipitado blanco. La suspensión se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml), y las fases orgánicas se separaron, se lavaron con agua (2 x 100 ml) y solución salina saturada (2 x 100 ml), y se secaron sobre Na_2SO_4 . La retirada del disolvente dio un sólido marrón (2,5 g, 92 %).
- 20 *Síntesis del Intermedio 6:* se agitó una mezcla de compuesto 4 (2,5 g, 8,58 mmol), compuesto 5 (2,52 g, 12,87 mmol), HATU (3,91 g, 10,30 mmol) y DIPEA (4,43 g, 34,32 mmol) a t.a. durante una noche. Después de filtrar la mezcla de reacción, el filtrado se evaporó hasta sequedad y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éteres de petróleo/EtOAc = 2/1) para dar un sólido marrón (2 g, 54 %).
- 25 *Síntesis de 2-(difenilamino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida:* se agitó una mezcla del compuesto 6 (2,0 g, 4,6 mmol), hidróxido sódico (2 N, 20 ml) en MeOH (50 ml) y DCM (25 ml) a 0 °C durante 10 min. Se enfrió hidroxilamina (50 %) (10 ml) a 0 °C y se añadió a la mezcla. La mezcla resultante se agitó a t.a. durante 20 min. Después de la retirada del disolvente, la mezcla se neutralizó con HCl 1 M para dar un precipitado blanco. El producto crudo se filtró y se purificó por HPLC preparativa para dar un sólido blanco (950 mg, 48 %).
- 30
- 35

II. Ruta sintética 1: 2-((2-clorofenil)(fenil)amino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida (Compuesto B)



5 *Síntesis del Intermedio 2:* se desgasificó una mezcla de anilina (3,7 g, 40 mmol), 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo 1 (7,5 g, 40 mmol), K_2CO_3 (11 g, 80 mmol) en DMF (100 ml) y se agitó a 120 °C en atmósfera de N_2 durante una noche. La mezcla de reacción se enfrió a ta y se diluyó con EtOAc (200 ml), y a continuación se lavó con solución salina saturada (200 ml x 3). La fase orgánica se separó y se secó sobre Na_2SO_4 , se evaporó hasta sequedad y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éteres de petróleo/EtOAc = 10/1) para dar el producto deseado en forma de un sólido blanco (6,2 g, 64 %).

10 *Síntesis del Intermedio 3:* se desgasificó una mezcla de compuesto 2 (69,2 g, 1 eq), 1-cloro-2-yodobenceno (135,7 g, 2 eq), Li_2CO_3 (42,04 g, 2 eq), K_2CO_3 (39,32 g, 1 eq), Cu (1 eq, 45 μm) en DMSO (690 ml) y se purgó con nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 140 °C durante 36 horas. El procesamiento de la reacción dio el compuesto 3 con un 93 % de rendimiento.

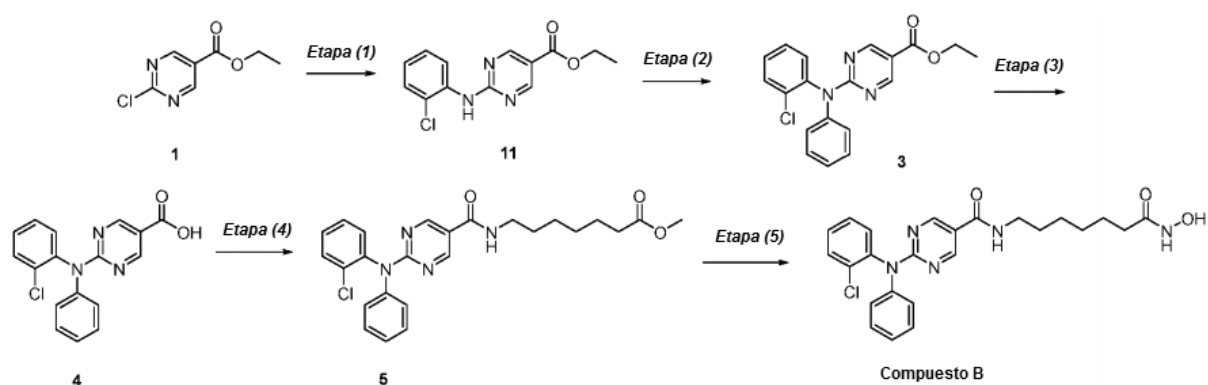
15 *Síntesis del Intermedio 4:* se añadió NaOH 2 N (200 ml) a una solución del compuesto 3 (3,0 g, 9,4 mmol) en EtOH (200 ml). La mezcla se agitó a 60 °C durante 30 min. Después de la evaporación del disolvente, la solución se neutralizó con HCl 2 N para dar un precipitado blanco. La suspensión se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml), y la fase orgánica se separó, se lavó con agua (2 x 100 ml) y solución salina saturada (2 x 100 ml), y se secó sobre Na_2SO_4 . La retirada del disolvente dio un sólido marrón (2,5 g, 92 %).

20 *Síntesis del Intermedio 5:* se usó un procedimiento análogo a la Síntesis del Intermedio 6 en la Parte I de este Ejemplo.

25 *Síntesis de 2-((2-clorofenil)(fenil)amino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida:* se usó un procedimiento análogo a la Síntesis de 2-(difenílamino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida en la Parte I de este Ejemplo.

III. Ruta sintética 2: 2-((2-clorofenil)(fenil)amino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida (Compuesto B)

30



35 *Etapa (1): síntesis del Compuesto 11:* se cargaron 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (7,0 kg), etanol (60 kg), 2-cloroanilina (9,5 kg, 2 eq) y ácido acético (3,7 kg, 1,6 eq) en un reactor en atmósfera inerte. La mezcla se calentó a reflujo. Después de al menos 5 horas se tomó una muestra de la reacción para análisis por HPLC (método TM-113.1016). Cuando el análisis indicó completación de reacción, la mezcla se enfrió a 70 ± 5 °C y se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA). A continuación, la reacción se enfrió a 20 ± 5 °C y la mezcla se agitó durante un período adicional de 2-6 horas. El precipitado resultante se filtra y se lava con etanol (2 x 6 kg) y heptano (24 kg). La torta se

seca a presión reducida a 50 ± 5 °C hasta peso constante para producir 8,4 kg de compuesto 11 (81 % de rendimiento y 99,9 % de pureza).

Etapa (2): síntesis del Compuesto 3: se añadieron cobre en polvo (0,68 kg, 1 eq, <75 micrómetros), carbonato potásico (4,3 kg, 1,7 eq), y dimetilsulfóxido (DMSO, 12,3 kg) a un reactor (vaso A). La solución resultante se calentó a 120 ± 5 °C. En un reactor separado (vaso B), se calentó una solución de compuesto 11 (2,9 kg) y yodobenceno (4,3 kg, 2 eq) en DMSO (5,6 kg) a 40 ± 5 °C. La mezcla se transfirió a continuación al vaso A durante 2-3 horas. La mezcla de reacción se calentó a 120 ± 5 °C durante 8-24 horas, hasta que el análisis por HPLC (método TM-113.942) determinó que quedaba ≤ 1 % de compuesto 11.

Etapa (3): síntesis del Compuesto 4: la mezcla de la Etapa (2) se enfrió a 90-100 °C y se añadió agua purificada (59 kg). La mezcla de reacción se agitó a 90-100 °C durante 2-8 horas hasta que HPLC mostró que quedaba ≤ 1 % de compuesto 3. El reactor se enfrió a 25 °C. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite, a continuación un filtro de 0,2 micrómetros, y el filtrado se recogió. El filtrado se extrajo con metil *t*-butil éter dos veces (2 x 12,8 kg). La fase acuosa se enfrió a 0-5 °C, a continuación se acidificó con ácido clorhídrico 6 N (HCl) hasta pH 2-3 mientras se mantenía la temperatura < 25 °C. A continuación, la reacción se enfrió a 5-15 °C. El precipitado se filtró y se lavó con agua fría. La torta se secó a 45-55 °C a presión reducida hasta peso constante para obtener 2,2 kg (65 % de rendimiento) de compuesto 4 con un 90,3 % de pureza AUC.

Etapa (4): síntesis del Compuesto 5: se cargaron diclorometano (40,3 kg), DMF (33 g, 0,04 eq) y compuesto 4 (2,3 kg) en un matraz de reacción. La solución se filtró a través de un filtro de 0,2 μ m y se devolvió al matraz. Se añadió cloruro de oxalilo (0,9 kg, 1 eq) mediante un embudo de adición durante 30-120 minutos a <30 °C. A continuación, se agitó el lote a <30 °C hasta que la compleción de reacción (compuesto 4 ≤ 3 %) se confirmó por HPLC (método TM-113.946). A continuación, la solución de diclorometano se concentró y se retiró el cloruro de oxalilo residual a presión reducida a <40 °C. Cuando el análisis por HPLC indicó que quedaba < 0,10 % de cloruro de oxalilo, el concentrado se disolvió en diclorometano reciente (24 kg) y se transfirió de vuelta al recipiente de reacción (Vaso A).

Un segundo vaso (Vaso B) se cargó con clorhidrato de 7-aminoheptanoato de metilo (Compuesto A1, 1,5 kg, 1,09 eq), DIPEA (2,5 kg, 2,7 eq), 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 42 g, 0,05 eq), y DCM (47,6 kg). La mezcla se enfrió a 0-10 °C y la solución de cloruro de ácido del Vaso A se transfirió al Vaso B mientras se mantenía la temperatura de 5 °C a 10 °C. La reacción se agita a 5-10 °C durante 3 a 24 horas, momento en el que el análisis por HPLC indicó compleción de reacción (método TM-113.946, compuesto 4 ≤ 5 %). A continuación, la mezcla se extrajo con una solución de HCl 1 M (20 kg), agua purificada (20 kg), bicarbonato sódico al 7 % (20 kg), agua purificada (20 kg), y solución al 25 % de cloruro sódico (20 kg). A continuación, en diclorometano se destiló al vacío a <40 °C y se arastró repetidamente con alcohol isopropílico. Cuando el análisis indicó que quedaba < 1 % en moles de DCM, la mezcla se enfrió gradualmente a 0-5 °C y se agitó a 0-5 °C durante al menos 2 horas. El precipitado resultante se recogió por filtración y se lavó con alcohol isopropílico frío (6,4 kg). La torta se succionó hasta sequedad en el filtro durante 4-24 horas, y a continuación se secó adicionalmente a 45-55 °C a presión reducida hasta peso constante. Se aislaron 2,2 kg (77 % de rendimiento) con un 95,9 % de método de pureza AUC y un 99,9 % en peso.

Etapa (5): síntesis del Compuesto (B): se cargaron clorhidrato de hidroxilamina (3,3 kg, 10 eq) y metanol (9,6 kg) en un reactor. La solución resultante se enfrió a 0-5 °C y se cargó lentamente metóxido sódico al 25 % (11,2 kg, 11 eq), manteniendo la temperatura a 0-10 °C. Una vez se completó la adición, la reacción se mezcló a 20 °C durante 1-3 horas y se filtró, y la torta de filtro se lavó con metanol (2 x 2,1 kg). El filtrado (base libre de hidroxilamina) se devolvió al reactor y se enfrió a 0 ± 5 °C. Se añadió Compuesto 5 (2,2 kg). La reacción se agitó hasta que se completó la reacción (método TM-113.964, compuesto 5 ≤ 2 %). La mezcla se filtró y se añadieron agua (28 kg) y acetato de etilo (8,9 kg) al filtrado. El pH se ajustó a 8-9 usando HCl 6 N y a continuación se agitó durante 3 horas antes de filtrarse. La torta de filtro se lavó con agua fría (25,7 kg), y a continuación se secó a presión reducida hasta peso constante. Se determinó que el compuesto sólido crudo (B) era la Forma IV/Patrón D.

El sólido crudo (1,87 kg) se suspendió en alcohol isopropílico (IPA, 27,1 kg). La suspensión se calentó a 75 ± 5 °C para disolver los sólidos. La solución se pipeteó con cristales del Compuesto (B) (Forma I/Patrón A), y se dejó enfriar a temperatura ambiente. El precipitado resultante se agitó durante 1-2 horas antes de filtrarse. La torta de filtro se aclaró con IPA (2 x 9,5 kg), y a continuación se secó a 45-55 °C hasta peso constante a presión reducida para dar como resultado 1,86 kg de Compuesto (B) sólido blanco cristalino con un 85 % de rendimiento y un 99,5 % de pureza (% AUC, método de HPLC de la Tabla 3).

Tabla 3: método de HPLC

Columna	Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6 mm x 150 mm, 3,5 μ m
Temperatura de la columna	40 °C
Longitud de onda de detección UV	Ancho de banda 4 nm, Fuera de referencia, 272 nm
Caudal	1,0 ml/min

(continuación)

Volumen de inyección	10 µl con lavado de aguja		
Fase móvil A	ácido trifluoroacético (TFA) al 0,05 % en agua purificada		
Fase móvil B	TFA al 0,04 % en acetonitrilo		
Recogida de datos	40,0 min		
Tiempo de proceso	46,0 min		
Gradiente	<u>Tiempo (min)</u>	<u>Fase móvil A</u>	<u>Fase móvil B</u>
	0,0	98 %	2 %
	36,0	0 %	100 %
	40,0	0 %	100 %
	40,1	98 %	2 %
	46,0	98 %	2 %

Ejemplo 2: ensayo enzimático de HDAC

5 En primer lugar, se sometió a ensayo el Compuesto B diluyendo el compuesto en DMSO hasta 50 veces la concentración final y se realizó una dilución seriada tres veces de diez puntos. El compuesto se diluyó en tampón de ensayo (HEPES 50 mM, pH 7,4, KCl 100 mM, Tween-20 al 0,001 %, BSA al 0,05 %, TCEP 20 µM) hasta 6 veces su concentración final. Las enzimas HDAC (adquiridas en BPS Biosciences; San Diego, CA) se diluyeron hasta 1,5 veces su concentración final en tampón de ensayo. Se diluyeron el sustrato tripeptídico y tripsina a 0,05 µM de concentración final en tampón de ensayo a 6 veces su concentración final. Las concentraciones enzimáticas finales usadas en estos ensayos fueron 3,3 ng/ml (HDAC1), 0,2 ng/ml (HDAC2), 0,08 ng/ml (HDAC3) y 2 ng/ml (HDAC6). Las concentraciones finales de sustrato usadas fueron 16 µM (HDAC1), 10 µM (HDAC2), 17 µM (HDAC3) y 14 µM (HDAC6). Se añadieron cinco µl de compuesto y 20 µl de enzima por duplicado a los pocillos de una placa opaca de color negro de 384 pocillos. La enzima y el compuesto se incubaron conjuntamente a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadieron cinco µl de sustrato a cada pocillo, la placa se agitó durante 60 segundos y se puso en un lector de placas de microvaloración Victor 2. El desarrollo de fluorescencia se monitorizó durante 60 min y se calculó la velocidad lineal de la reacción. Se determinó el valor de CI_{50} usando Graph Pad Prism con un ajuste de curva de cuatro parámetros. Véase la Tabla 1 para los valores de CI_{50} asociados a los Compuestos A y B.

20 Ejemplo 3. El Compuesto B en combinación con ABT-199 reduce sinérgicamente la viabilidad de líneas celulares de LMA.

El Compuesto B muestra sinergia con ABT-199 para reducir la viabilidad de líneas celulares de LMA (Figuras 1A-1C). Se trataron células MOLM-13, Kasumi-1 y MV-4-11 por cuadruplicado en placas de 384 pocillos durante 72 h con Compuesto B y ABT-199 a una proporción constante, elegida para reflejar aproximadamente $CI_{50}:CI_{50}$. Se calculó un índice de combinación (IC) usando el *software* Calcsyn. Se calcularon los valores de IC para una reducción estimada de un 50 % con respecto a cada línea celular: MOLM-13: IC = 0,745; Kasumi-1: IC = 0,442; MV-4-11: IC = 0,779. Un valor de IC < 1 indica sinergia. De ese modo, la combinación de Compuesto B y ABT-199 reduce sinérgicamente la viabilidad de las tres líneas celulares de LMA sometidas a ensayo.

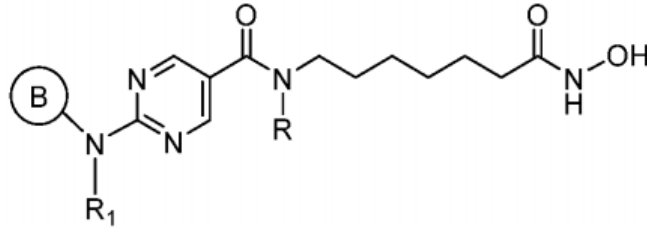
30 Ejemplo 4. El Compuesto B en combinación con ABT-199 (venetoclax) induce apoptosis sinérgica.

La combinación de Compuesto B con ABT-199 aumentó adicionalmente la apoptosis en comparación con un tratamiento de agente individual en células de LMA (Figuras 2A-2B). Se trataron células MV-4-11 y HL-60 con Compuesto B solo, ABT-199 (venetoclax) solo y una combinación de Compuesto B con venetoclax a las dosis indicadas durante 48 h. La apoptosis se evaluó por medición de células positivas a Anexina V usando FACS. El tratamiento con una combinación de Compuesto B con ABT-199 dio como resultado un aumento sinérgico de células apoptóticas en comparación con el tratamiento con cada agente individual.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación farmacéutica que comprende:

5 (a) un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I:



(I)

10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en donde,

el anillo B es arilo o heteroarilo;

R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆;

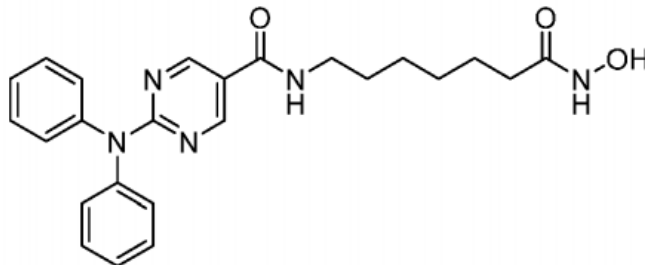
y

15 R es H o alquilo C₁₋₆; y

(b) un inhibidor de BCL-2, en donde el inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-(((tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonyl)benzamida (venetoclax) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. La combinación farmacéutica de la reivindicación 1, en donde:

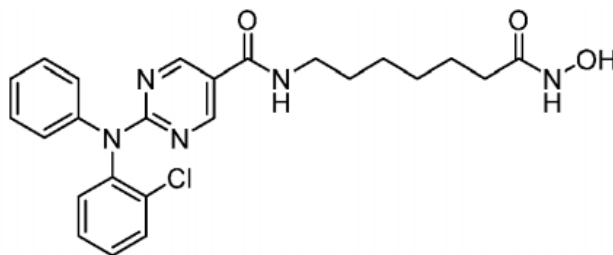
(a) el compuesto de Fórmula I es:



(A)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; o en donde:

(b) el compuesto de Fórmula I es:



(B)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. La combinación farmacéutica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 están:

- (a) en la misma formulación; o
 (b) en formulaciones separadas.

5 4. La combinación farmacéutica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la combinación es para administración simultánea o secuencial.

5. La combinación farmacéutica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2 para uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita.

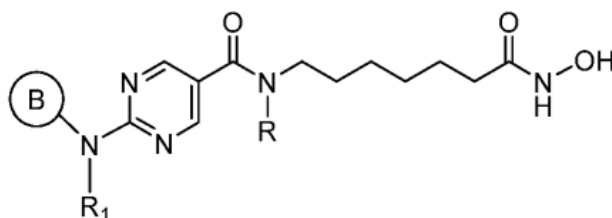
10 6. La combinación farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el cáncer es un cáncer hematológico.

15 7. La combinación farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el cáncer es refractario o resistente al tratamiento con al menos una terapia anterior.

8. Una cantidad terapéuticamente eficaz de

(a) un inhibidor de histona desacetilasa 6 (HDAC6) de Fórmula I:

20



(I)

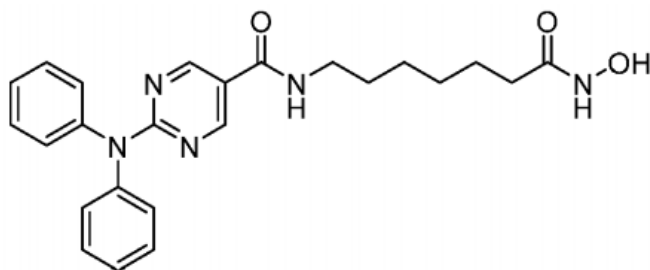
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
 en donde,

- 25 el anillo B es arilo o heteroarilo;
 R₁ es arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo, o alquilo C₁₋₆;
 y
 R es H o alquilo C₁₋₆; y

30 (b) un inhibidor de BCL-2, en donde el inhibidor de BCL-2 es 2-((1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxi)-4-(4-((4'-cloro-5,5-dimetil-3,4,5,6-tetrahydro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil)piperazin-1-il)-*N*-((3-nitro-4-(((tetrahydro-2*H*-piran-4-il)metil)amino)fenil)sulfonyl)benzamida (venetoclax) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo,
 para uso en el tratamiento o prevención de cáncer en un sujeto que lo necesita.

35 9. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde:

(a) el compuesto de Fórmula I es:



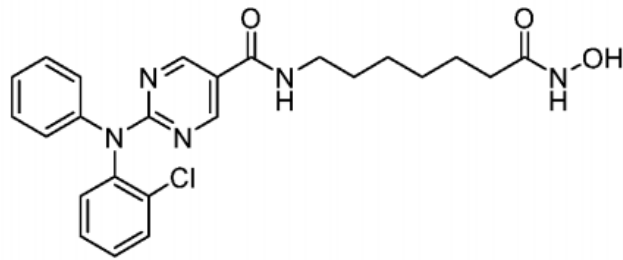
(A)

40

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; o en donde:

(b) el compuesto de Fórmula I es:

45



(B)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 10. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de acuerdo con la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en donde el cáncer es un cáncer hematológico.

11. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en donde el cáncer es refractario o resistente al tratamiento con al menos una terapia anterior.

10 12. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en donde el inhibidor de HDAC6 y el inhibidor de BCL-2 se administran:

(a) aproximadamente en el mismo momento; o

15 (b) en momentos diferentes.

13. La combinación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para uso en un método de disminución de crecimiento y viabilidad celulares, en donde el método comprende poner en contacto la célula con la combinación farmacéutica, y en donde la célula es una célula de leucemia.

20

FIG. 1A

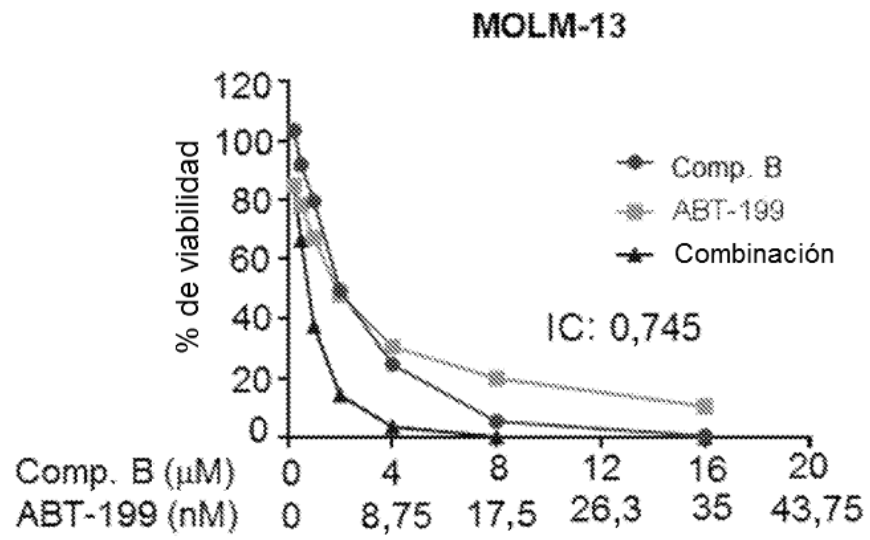


FIG. 1B

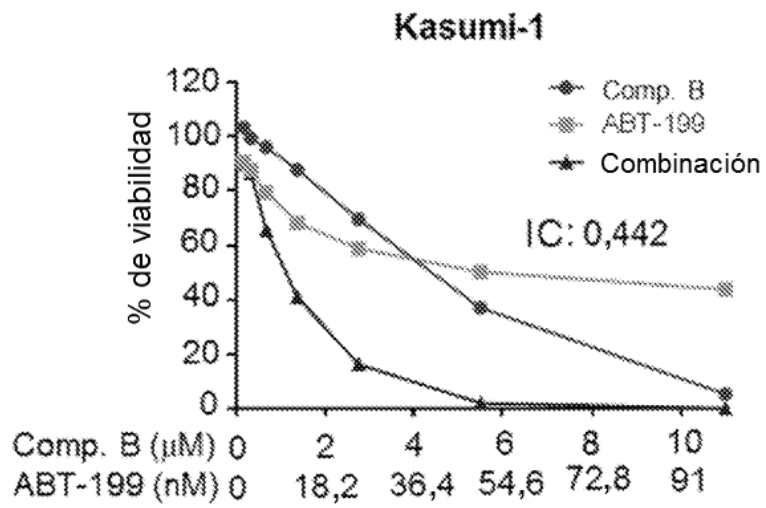


FIG. 1C

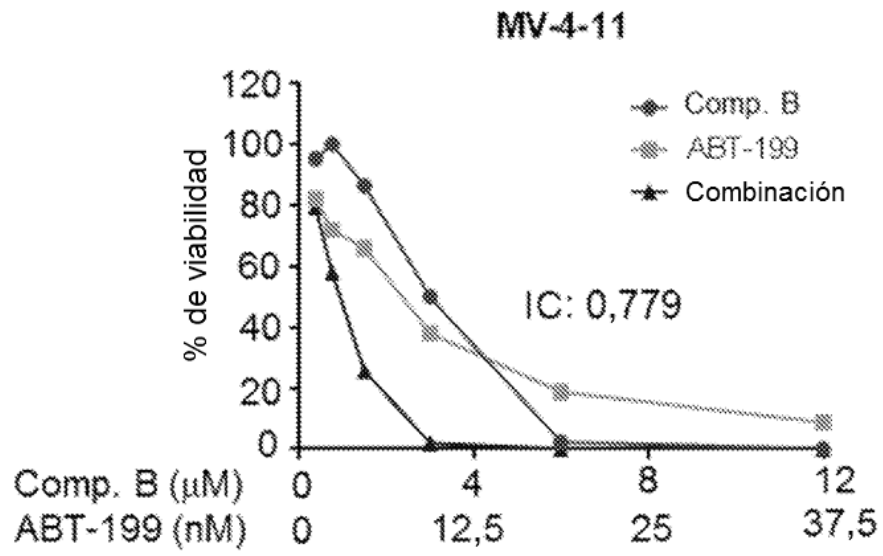


FIG. 2A

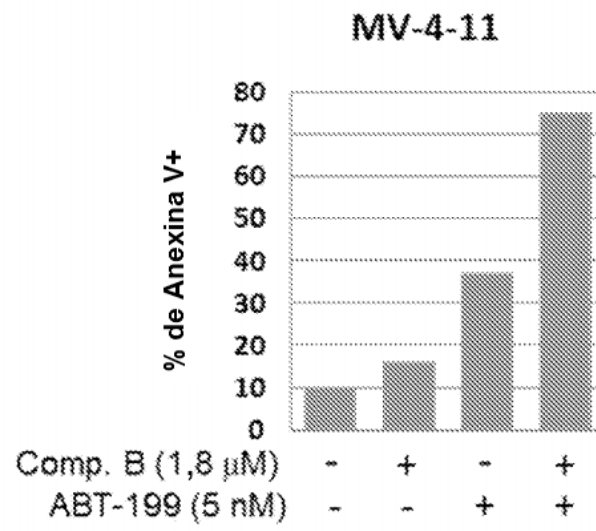


FIG. 2B

