



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **3 014 202**

⑯ Int. Cl.:

A61K 31/498 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)
A61K 31/5025 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2015 E 20213964 (8)**

⑯ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2025 EP 3848034**

⑮ Título: **Inhibidores de cMet para uso en el retraso de la aparición de resistencia a los inhibidores de FGFR**

⑯ Prioridad:

26.03.2014 EP 14161835

⑯ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.04.2025

⑯ Titular/es:

ASTEX THERAPEUTICS LIMITED (100.00%)
436 Cambridge Science Park, Milton Road,
Cambridge, Cambridgeshire, CB4 0QA, GB

⑯ Inventor/es:

**JOVCHEVA, ELEONORA y
PERERA, TIMOTHY PIETRO SUREN**

⑯ Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 3 014 202 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

Inhibidores de cMet para uso en el retraso de la aparición de resistencia a los inhibidores de FGFR

Campo de la invención

- 5 La invención se refiere a una combinación de un primer compuesto seleccionado de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il) pirido[2,3-b]pirazin-6-amina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo; y un segundo compuesto que es un inhibidor de cMet para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.
- 10 El inhibidor de FGFR (N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo) y el inhibidor de cMet se pueden administrar simultáneamente, por separado o secuencialmente.
- 15 La invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una combinación de acuerdo con la invención para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

La invención se refiere además a un inhibidor de cMet para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer a un inhibidor de FGFR.

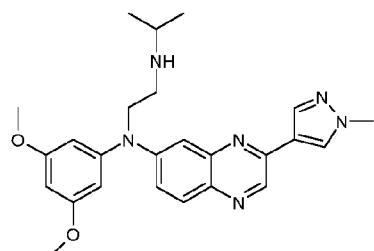
20 Sumario de la invención

La presente invención se refiere a una combinación de un primer compuesto seleccionado de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina (compuesto A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina (compuesto B) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo; y un segundo compuesto que es un inhibidor de cMet.

La invención se refiere adicionalmente a un inhibidor de cMet para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer a un inhibidor de FGFR.

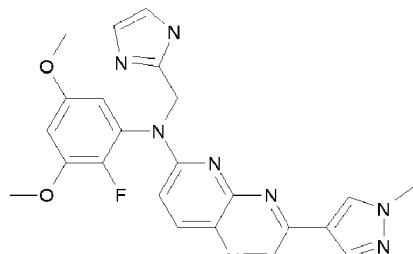
Antecedentes de la invención

30 N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina (compuesto A) está representado por la siguiente fórmula



Compuesto A

N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina (compuesto B) está representado por la siguiente fórmula



Compuesto B

Los compuestos N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina (compuesto A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina (compuesto B) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y su síntesis química se describen en los documentos WO2011/135376 y WO2013/061080. Se describen como inhibidores o moduladores de la actividad de cierta proteína tirosina quinasa, en particular FGFR, y por lo tanto los compuestos son útiles en el tratamiento o profilaxis, en particular el tratamiento, de estados patológicos o afecciones mediados por esas tirosina quinasas, en particular FGFR. Los compuestos son útiles en el tratamiento o la profilaxis, en particular el tratamiento, del cáncer.

En el documento WO2011/135376, el presente compuesto A también se ejemplifica como una sal de clorhidrato. En el documento WO2013/061080, el presente compuesto B también se ejemplifica como una sal de sulfato, como una sal de clorhidrato, como una sal de fosfato, como una sal de lactato, como una sal de fumarato.

FGFR

La familia del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) de receptores de proteína tirosina quinasa (PTK) regula una serie diversa de funciones fisiológicas que incluyen mitogénesis, cicatrización de heridas, diferenciación celular y angiogénesis, y desarrollo. Tanto el crecimiento de células normales como malignas así como la proliferación se ven afectados por cambios en la concentración local de FGF, moléculas de señalización extracelular que actúan como factores autocrinos y paracrinos. La señalización autocrina de FGF puede ser particularmente importante en la progresión de cánceres dependientes de hormonas esteroideas a un estado independiente de hormonas. Los FGF y sus receptores se expresan a mayores niveles en varios tejidos y líneas celulares y se cree que la sobreexpresión contribuye al fenotipo maligno. Además, varios oncogenes son homólogos de genes que codifican receptores de factores de crecimiento, y existe la posibilidad de una activación aberrante de la señalización dependiente de FGF en el cáncer de páncreas humano (Knights et al., Pharmacology and Therapeutics 2010, 125: 1 (105-117); Korc M. et al., Current Cancer Drug Targets 2009, 9: 5 (639-651)).

Los dos miembros prototípicos son un factor ácido de crecimiento de fibroblastos (aFGF o FGF1) y un factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF o FGF2) y, hasta la fecha, se han identificado al menos veinte miembros distintos de la familia de FGF. La respuesta celular a los FGF se transmite a través de cuatro tipos de receptores del factor de crecimiento de fibroblastos de proteína tirosina quinasa de alta afinidad (FGFR) numerados del 1 al 4 (FGFR1 a FGFR4).

La interrupción de la vía del FGFR1 debería afectar la proliferación de las células tumorales ya que esta quinasa se activa en muchos tipos de tumores además de las células endoteliales en proliferación. La sobreexpresión y activación de FGFR1 en la vasculatura asociada a tumores ha sugerido un papel de estas moléculas en la angiogénesis tumoral.

Un estudio reciente ha mostrado un vínculo entre la expresión de FGFR1 y la tumorigenidad en los carcinomas lobulares clásicos (CLC). Los CLC representan el 10-15% de todos los cánceres de mama y, en general, carecen de la expresión de p53 y Her2 mientras retienen la expresión del receptor de estrógeno. Se demostró una amplificación del gen de 8p12-p11.2 en aproximadamente el 50% de los casos de CLC y se demostró que esto estaba relacionado con una mayor expresión de FGFR1. Los estudios preliminares con ARNpi dirigido contra FGFR1, o un inhibidor de molécula pequeña del receptor, mostraron que las líneas celulares que albergan esta amplificación son particularmente sensibles a la inhibición de esta vía de señalización. El rabdomiosarcoma (RMS) es el sarcoma de tejido blando pediátrico más común que probablemente se debe a una proliferación y diferenciación anormales durante la miogénesis esquelética. FGFR1 se sobreexpresa en tumores de rabdomiosarcoma primarios y se asocia con hipometilación de una isla de CpG 5' y expresión anormal de los genes AKT1, NOG y BMP4. FGFR1 también se ha relacionado con cáncer de pulmón escamoso, cáncer colorrectal, glioblastoma, astrocitomas, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides, cáncer de útero.

El receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos tiene una alta afinidad por los factores de crecimiento ácido y/o básico de fibroblastos, así como por los ligandos del factor de crecimiento de queratinocitos. El receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos también propaga los potentes efectos osteogénicos de los FGF durante el crecimiento y la diferenciación de los osteoblastos. Se demostró que las mutaciones en el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos, que conducen a alteraciones funcionales complejas, inducen la osificación anormal de las suturas craneales (craneosinostosis), lo que implica un papel importante de la señalización de FGFR en la formación de hueso intramembranoso. Por ejemplo, en el síndrome de Apert (AP), caracterizado por osificación prematura de la sutura craneal, la mayoría de los casos se asocian con mutaciones puntuales que generan una ganancia de función en el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos. Además, la detección de mutaciones en pacientes con craneosinostosis sindrómicas indica que un número de mutaciones recurrentes de FGFR2 explica las formas graves del síndrome de Pfeiffer. Las mutaciones particulares de FGFR2 incluyen W290C, D321A, Y340C, C342R, C342S, C342W, N549H, K641R en FGFR2.

Varias anomalías graves en el desarrollo esquelético humano, incluidos los síndromes de Apert, Crouzon, Jackson-Weiss, cutis gyrata de Beare-Stevenson y Pfeiffer, están asociadas con la aparición de mutaciones en el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos. La mayoría, si no todos, los casos del síndrome de Pfeiffer (PS) también son causados por una nueva mutación del gen del receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos, y recientemente se demostró que las mutaciones en el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos rompen una de las reglas cardinales que gobiernan la especificidad del ligando. Así como, dos formas de empalme mutantes del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos, FGFR2c y FGFR2b, han adquirido la capacidad de unirse y ser activadas por ligandos de FGF atípicos. Esta pérdida de especificidad del ligando conduce a una señalización aberrante y sugiere que los fenotipos graves de estos síndromes patológicos son el resultado de la activación ectópica dependiente del ligando del receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos.

Las aberraciones genéticas del receptor tirosina quinasa del FGFR3, tales como translocaciones cromosómicas o mutaciones puntuales, dan como resultado receptores FGFR3 expresados o desregulados ectópicamente, constitutivamente activos. Tales anomalías están relacionadas con un subconjunto de mielomas múltiples y en carcinoma de vejiga, hepatocelular, oral de células escamosas y carcinomas de cuello uterino. Por consiguiente, los inhibidores de FGFR3 serían útiles en el tratamiento de mieloma múltiple, carcinomas de vejiga y cervicales. FGFR3 también se sobreexpresa en el cáncer de vejiga, en particular en el cáncer de vejiga invasivo. FGFR3 se activa con frecuencia por mutación en el carcinoma urotelial (CU). El aumento de la expresión se asoció con la mutación (el 85% de los tumores mutantes mostraron un alto nivel de expresión), pero también el 42% de los tumores sin mutación detectable mostraron una sobreexpresión, incluidos muchos tumores invasores de músculos. FGFR3 también está relacionado con el cáncer de endometrio y tiroides.

La sobreexpresión de FGFR4 se ha relacionado con un mal pronóstico en los carcinomas de próstata y tiroides. Además, un polimorfismo de la línea germinal (Gly388Arg) se asocia con una mayor incidencia de cánceres de pulmón, mama, colon, hígado (HCC) y próstata. Además, también se ha encontrado que una forma truncada de FGFR4 (que incluye el dominio quinasa) está presente en el 40% de los tumores pituitarios pero no está presente en el tejido normal. Se ha observado una sobreexpresión de FGFR4 en tumores de hígado, colon y pulmón. FGFR4 se ha implicado en el cáncer colorrectal y de hígado en el que la expresión de su ligando FGF19 está frecuentemente elevada. FGFR4 también está relacionado con astrocitomas, rhabdomiosarcoma.

Las afecciones fibróticas son un problema médico importante que resulta de la deposición anormal o excesiva de tejido fibroso. Esto ocurre en muchas enfermedades, tales como cirrosis hepática, glomerulonefritis, fibrosis pulmonar, fibrosis sistémica, artritis reumatoide, así como en el proceso natural de cicatrización de heridas. Los mecanismos de la fibrosis patológica no se comprenden completamente, pero se cree que son el resultado de las acciones de varias citocinas (incluido el factor de necrosis tumoral (TNF), los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF β) implicado en la proliferación de fibroblastos y el depósito de proteínas de la matriz extracelular (incluyendo colágeno y fibronectina). Esto da como resultado la alteración de la estructura y función del tejido y la patología posterior.

Varios estudios preclínicos han demostrado la sobreexpresión de los factores de crecimiento de fibroblastos en modelos preclínicos de fibrosis pulmonar. Se ha informado que TGF β 1 y PDGF están involucrados en el proceso fibrogénico y trabajos publicados adicionales sugieren que la elevación de FGF y el consiguiente aumento de la proliferación de fibroblastos pueden ser en respuesta a TGF β 1 elevado. El posible beneficio terapéutico de dirigirse al mecanismo fibrótico en afecciones tales como la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es sugerido por el efecto clínico informado del agente antifibrótico pirfenidona. La fibrosis pulmonar idiopática (también conocida como alveolitis fibrosante criptogénica) es una afección progresiva que implica cicatrización del pulmón. Gradualmente, los sacos de aire de los pulmones son reemplazados por tejido fibrótico, que se vuelve más grueso, lo que provoca una pérdida irreversible de la capacidad del tejido para transferir oxígeno al torrente sanguíneo. Los síntomas de la enfermedad incluyen dificultad para respirar, tos seca crónica, fatiga, dolor en el pecho y pérdida del apetito, lo que resulta en una rápida pérdida de peso. La afección es extremadamente grave con aproximadamente un 50% de mortalidad después de 5 años.

Como tales, los compuestos que inhiben FGFR serán útiles para proporcionar un medio para prevenir el crecimiento o inducir la apoptosis en tumores, particularmente inhibiendo la angiogénesis. Por lo tanto, se anticipa que los compuestos resultarán útiles para tratar o prevenir trastornos proliferativos tales como cánceres. En particular, los tumores con mutantes activadores del receptor tirosina quinasa o sobreexpresión del receptor tirosina quinasa pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores. Los pacientes con mutantes activadores de cualquiera de las isoformas del RTK (receptor tirosina quinasa) específico discutido en el presente documento también pueden encontrar tratamiento particularmente beneficioso con inhibidores de RTK.

Los inhibidores de quinasa del FGFR descritos en el presente documento tienen un perfil de selectividad diferenciado que proporciona una nueva oportunidad para usar estos agentes dirigidos en subgrupos de pacientes cuya enfermedad es impulsada por la desregulación de FGFR. Los inhibidores de quinasa del FGFR descritos en este documento exhiben una acción inhibidora reducida sobre quinasa adicionales,

particularmente VEGFR, más en particular VEGFR2, y PDGFR, en particular PDGFR-beta, y ofrecen la oportunidad de tener un efecto secundario o perfil de toxicidad diferenciado y como tal permiten un tratamiento más eficaz de estas indicaciones. Los inhibidores de VEGFR2 y PDGFR-beta están asociados con toxicidades tales como hipertensión o edema, respectivamente. En el caso de los inhibidores de VEGFR2, este efecto hipertensivo suele limitar la dosis, puede estar contraindicado en determinadas poblaciones de pacientes y requiere tratamiento clínico.

5 Receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR)

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), un polipéptido, es mitógeno para las células endoteliales *in vitro* y estimula las respuestas angiogénicas *in vivo*. VEGF también se ha relacionado con una angiogénesis 10 inapropiada. Los VEGFR son proteína tirosina quinásas (PTK). PTK catalizan la fosforilación de residuos de tirosina específicos en proteínas implicadas en la función celular, regulando así el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación celular.

15 Se han identificado tres receptores de PTK para VEGF: VEGFR-1 (Flt-1); VEGFR-2 (Flk-1 o KDR) y VEGFR-3 (Flt-4). Estos receptores están implicados en la angiogénesis y participan en la transducción de señales. De particular interés es VEGFR-2, que es un receptor transmembrana PTK expresado principalmente en células endoteliales. La activación de VEGFR-2 por VEGF es una etapa crítica en la vía de transducción de señales que inicia la angiogénesis tumoral. La expresión de VEGF puede ser constitutiva de las células tumorales y también puede sobreregularse en respuesta a ciertos estímulos. Uno de esos estímulos es la hipoxia, en la que la expresión de VEGF se sobreregula tanto en el tumor como en los tejidos del huésped asociados. El 20 ligando de VEGF activa VEGFR-2 al unirse con su sitio de unión de VEGF extracelular. Esto conduce a la dimerización del receptor de VEGFR y la autofosforilación de residuos de tirosina en el dominio de quinasa intracelular de VEGFR-2. El dominio de quinasa opera para transferir un fosfato del ATP a los residuos de tirosina, proporcionando así sitios de unión para las proteínas de señalización secuencia abajo de VEGFR-2 lo que conduce finalmente al inicio de la angiogénesis.

25 PDGFR

Un tumor maligno es el producto de una proliferación celular descontrolada. El crecimiento celular está controlado por un delicado equilibrio entre los factores promotores e inhibidores del crecimiento. En el tejido normal, la producción y actividad de estos factores da como resultado que las células diferenciadas crezcan de una manera controlada y regulada que mantiene la integridad y el funcionamiento normales del órgano. La 30 célula maligna ha eludido este control; el equilibrio natural se altera (a través de una variedad de mecanismos) y se produce un crecimiento celular aberrante y no regulado. Un factor de crecimiento de importancia en el desarrollo de tumores es el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) que comprende una familia de factores de crecimiento peptídicos que envían señales a través de los receptores de tirosina quinasa de la 35 superficie celular (PDGFR) y estimulan diversas funciones celulares, incluido el crecimiento, la proliferación y la diferenciación.

cMet

El receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) (también conocido como factor de dispersión), c-Met (Met), es un receptor de tirosina quinasa que regula la proliferación celular, la morfogénesis y la motilidad. El gen de c-Met se traduce en una proteína de 170 kD que se procesa en un receptor de superficie celular compuesto por una subunidad transmembrana β de 140 kD y una subunidad α extracelular glicosilada de 50 kD.

40 Mutaciones en c-Met, sobreexpresión de c-Met y/o HGF/SF (factor de dispersión), expresión de c-Met y HGF/SF por la misma célula, y sobreexpresión y/o señalización aberrante de c-Met está presente en una variedad de tumores sólidos humanos y se cree que participa en la angiogénesis, el desarrollo de tumores, la invasión y la metástasis. Las líneas celulares con activación incontrolada de c-Met, por ejemplo, son altamente invasivas y metastásicas. Una diferencia notable entre las células normales y transformadas que expresan el receptor de c-Met es que la fosforilación del dominio de tirosina quinasa en las células tumorales es a menudo independiente de la presencia del ligando.

45 Se han identificado mutaciones/alteraciones de c-Met en una serie de enfermedades humanas, incluidos tumores y cánceres, por ejemplo, carcinomas renales papilares humanos hereditarios y esporádicos, cáncer de mama, cáncer colorrectal opcionalmente con metástasis hepáticas, carcinoma gástrico, glioma, cáncer de ovario, carcinoma hepatocelular, carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma testicular, carcinoma de células basales, carcinoma de hígado, sarcoma, mesotelioma pleural maligno, melanoma, 50 mieloma múltiple, osteosarcoma, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, sarcoma sinovial, carcinoma de tiroides, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) y cáncer de pulmón de células pequeñas, carcinoma de células de transición de vejiga urinaria, carcinoma testicular, carcinoma de células basales, carcinoma de hígado y leucemias, linfomas y mielomas, por ejemplo, leucemia linfocítica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia promielocítica aguda (LPA), leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia

5 mieloide crónica (LMC), leucemia neutrofílica crónica (LNC), leucemia aguda no diferenciada (LAND), linfoma anaplásico de células grandes (LACL), leucemia prolinofítica (LPL), leucemia mielomonocítica juvenil (LMMJ), LLA de células T adultas, LMA con mielodisplasia trilinaje (LMA/MDST), leucemia de linaje mixto (LLM), síndromes mielodisplásicos (SMD), trastornos mieloproliferativos (TMP), mieloma múltiple (MM), sarcoma 10 mieloide, linfoma no Hodgkin y enfermedad de Hodgkin (también llamada linfoma de Hodgkin).

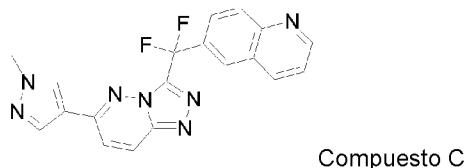
También se cree que la sobreexpresión de c-Met es un predictor potencialmente útil para el pronóstico de ciertas enfermedades, tales como, por ejemplo, cáncer de mama, carcinoma de pulmón de células no pequeñas, neoplasias endocrinas pancreáticas, cáncer de próstata, adenocarcinoma esofágico, cáncer colorrectal, carcinoma de glándulas salivales, linfoma difuso de células B grandes y carcinoma endometrial.

10 15 Debido al papel de la señalización aberrante de HGF/SF-Met en la patogénesis de varios cánceres humanos, los inhibidores del receptor de tirosina quinasa c-Met tienen amplias aplicaciones en el tratamiento de cánceres en los que la actividad de Met contribuye al fenotipo invasivo/metastásico, incluidos aquellos en los que c-Met no se sobreexpresa ni se altera de otro modo. Los inhibidores de c-Met también inhiben la angiogénesis y, por lo tanto, se cree que tienen utilidad en el tratamiento de enfermedades asociadas con la formación de nueva vasculatura, tales como artritis reumatoide y retinopatía.

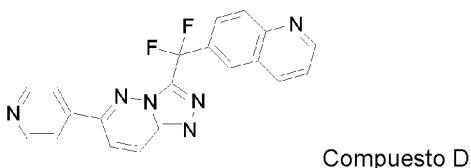
20 Los documentos WO2007/075567 y WO2008/155378 describen inhibidores de cMet, tales como 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y su síntesis química y polimorfos de los mismos.

25 Se describen como moduladores de proteína tirosina quinasa, particularmente inhibidores de c-Met, y el uso de dichos compuestos para reducir o inhibir la actividad quinasa de c-Met en una célula o un sujeto, y modular la expresión de c-Met en un célula o sujeto, y el uso de tales compuestos para prevenir o tratar en un sujeto un trastorno proliferativo celular y/o trastornos relacionados con c-Met, en particular cáncer.

25 6-[Difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina (compuesto C) está representado por la siguiente estructura



6-[Difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina (compuesto D) está representado por la siguiente fórmula



30

En el documento WO2008/155378 también se ejemplifican las formas cristalinas y los hidratos del compuesto C, en particular la Forma I, la Forma II, la Forma III y una forma hidratada del presente compuesto C.

35

En el documento WO2008/155378, el presente compuesto C también se ejemplifica como una sal de HBr, como una sal de HCl, como una sal de metanosulfonato (mesilato), como una sal de etanosulfonato (esilato) y como un aptoluenosulfonato (tosilato).

El compuesto C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y el compuesto D o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, son inhibidores selectivos de cMet.

El documento WO2013/151913 se refiere a combinaciones de inhibidores de tirosina quinasa y su uso.

40

El documento EP-A-2650293 describe compuestos de[1,2,4]triazolo[4,3-b][1,2,4]triazina, incluido su uso como inhibidores de proteína tirosina quinasa, especialmente como inhibidores de c-Met, en la preparación de medicamentos para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades asociadas con anomalías de c-Met.

Descripción de las Figuras

Figura 1: Transferencia Western de lisados de proteínas derivados de células NCI-H1581 parentales y resistentes tratadas sin (-) o con (+) inhibidor de Met, compuesto C 300 nM, durante 30 minutos.

Figura 2: Gráfico de IncuCyte (% de confluencia en el tiempo) que representa la proliferación de células NCI-H1581 tratadas con agentes individuales (compuesto A [1 μ M] o compuesto D [1 μ M]) o una combinación del compuestos A [1 μ M] y del compuesto D [1 μ M] y DMSO como control del vehículo.

Figura 3. Eficacia del agente individual, compuesto A y combinación del compuesto A y el compuesto D en 5 xenoinjertos resistentes de NCI-H1581.

Figura 4. Gráfico de IncuCyte (% de confluencia en el tiempo) que representa la proliferación de células NCI-H1581 y células NCI-H1581^{Met(+)} tratadas con compuesto A [0,1 μ M] o una combinación del compuesto A [0,1 μ M] y el compuesto D [1 μ M] y DMSO como control del vehículo.

Descripción detallada de la invención

10 La presente invención se refiere a una combinación de un primer compuesto seleccionado entre N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina (compuesto A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina (compuesto B) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo; y un segundo compuesto que es un inhibidor 15 de cMet, en particular un inhibidor de cMet como se describe en este documento para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

En una realización, la presente invención se refiere a una combinación de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina (compuesto A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y un inhibidor de cMet, en particular un inhibidor de cMet como se describe en el presente documento para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

20 En una realización, la presente invención se refiere a una combinación de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina (compuesto A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

25 En una realización, la presente invención se refiere a una combinación de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina (compuesto A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

30 En una realización, la presente invención se refiere a una combinación de N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina (compuesto B) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y un inhibidor de cMet, en particular un inhibidor de cMet como se describe en el presente documento para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

35 En una realización, la presente invención se refiere a una combinación de N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina (compuesto B) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

40 En una realización, la presente invención se refiere a una combinación de N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina (compuesto B) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

45 En una realización, el inhibidor de FGFR (compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, o el compuesto B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo) y el inhibidor de cMet, en particular el inhibidor de cMet como se describe en este documento, más en particular el compuesto C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, o el compuesto D o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, de las combinaciones para uso de acuerdo con la presente invención se administran simultáneamente (por ejemplo, en composiciones separadas o unitarias) secuencialmente en cualquier orden, aproximadamente al mismo tiempo. En este caso, los dos compuestos se administrarán en una cantidad y manera que sea suficiente para asegurar que se logre un efecto ventajoso o sinérgico.

En una realización, el inhibidor de FGFR (compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, o el compuesto B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo) y el inhibidor de cMet, en particular el inhibidor de cMet como se describe en este documento, más en particular el compuesto C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, o el compuesto D o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, de las combinaciones para uso de acuerdo con la presente invención se administran secuencialmente en cualquier orden, en programas de dosificación separados. En este caso, los dos compuestos se administrarán dentro de un período y en una cantidad y manera que sea suficiente para asegurar que se logre un efecto ventajoso o sinérgico.

5 Se apreciará que el método preferido y el orden de administración y las respectivas cantidades y regímenes de dosificación para cada componente de la combinación dependerán del agente quimioterapéutico particular que se administra, su vía de administración, el tumor particular que se está tratando y el huésped particular tratado.

10 Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente el método y el orden de administración óptimos y las cantidades y el régimen de dosificación utilizando métodos convencionales y en vista de la información expuesta en este documento.

15 En las combinaciones para uso de acuerdo con la presente invención, el inhibidor de FGFR y el inhibidor de cMet pueden formularse en formas de dosificación farmacéuticas separadas, que pueden venderse independientemente entre sí, pero con la indicación o instrucción para uso combinado. Dicha indicación o instrucción puede ser en forma de un prospecto para el paciente, o en forma de cualquier comunicación, por ejemplo en forma escrita u oral.

20 En las combinaciones para uso de acuerdo con la presente invención, el inhibidor de FGFR y el inhibidor de cMet se pueden administrar mediante la misma vía de administración o mediante diferentes vías de administración.

En una realización, el inhibidor de FGFR y el inhibidor de cMet de las combinaciones para uso de acuerdo con la presente invención se administran por la misma vía de administración, en particular por vía oral.

25 Se divulga (pero no se reivindica) un producto farmacéutico o un empaque comercial que comprende una combinación de acuerdo con la presente invención, en particular junto con instrucciones para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de una enfermedad mediada por la actividad de tirosina quinasa del FGFR, especialmente un cáncer.

30 En una realización, en las combinaciones para uso de acuerdo con la presente invención, el inhibidor de FGFR y el inhibidor de cMet se administran simultáneamente.

En una realización, en las combinaciones para uso de acuerdo con la presente invención, el inhibidor de FGFR y el inhibidor de cMet se administran por separado, en particular en un intervalo de tiempo que se elige de manera que el efecto del uso combinado sea mayor que el efecto obtenido al administrar el inhibidor de FGFR o inhibidor de cMet únicamente.

35 En el caso de una combinación para uso de acuerdo con la presente invención que comprende el compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo como el inhibidor de FGFR, puede ser ventajoso administrar dicho compuesto con menos frecuencia que el inhibidor de cMet porque el compuesto A muestra propiedades lisosomotrópicas y apagado prolongado del objetivo.

40 El inhibidor de FGFR y el inhibidor de cMet de las combinaciones para uso de acuerdo con la presente invención también pueden formularse conjuntamente en una única formulación.

En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y como primer ingrediente activo un compuesto seleccionado de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il) pirido[2,3-b]pirazin-6-amina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo; y como segundo ingrediente activo un inhibidor de cMet, en particular un inhibidor de cMet como se describe en el presente documento, más en particular un compuesto seleccionado de 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y 6-[difluoro (6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

55 En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y como primer ingrediente activo N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y como segundo ingrediente activo un inhibidor de cMet, en particular un inhibidor de

cMet como se describe en el presente documento para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y como primer ingrediente activo N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y como segundo ingrediente activo 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil] quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

5 En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y como primer ingrediente activo N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y como segundo ingrediente activo 6-[difluoro (6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]-10 piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

15 En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y como primer ingrediente activo N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo; y como segundo ingrediente activo un inhibidor de cMet, en particular un inhibidor de cMet como se describe en el presente documento para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

20 En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y como primer ingrediente activo N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo; y como segundo ingrediente activo 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

25 En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y como primer ingrediente activo N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo; y como segundo ingrediente activo 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il] metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

30 En una realización, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención se administran por vía oral.

35 En una realización, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención comprenden como únicos ingredientes activos un inhibidor de FGFR y un inhibidor de cMet, incluidos los descritos en cualquiera de las realizaciones de la presente invención.

En la presente invención, en una realización, el inhibidor de cMet de las combinaciones o las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención también se pueden seleccionar del grupo de:

40 (E)-2-(1-(3-((7-fluoroquinolin-6-il)metil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)etiliden)hidracincarboxamida (Ejemplo 1 del documento WO2011/018454); 2-fluoro-N-metil-4-[(7-quinolin-6-il-metil)-imidazo[1,2-b]triazin-2-il]benzamida (Ejemplo 7 del documento WO 2008/064157); crizotinib; cabozantinib; tivantinib; foretinib; MGCD-265; AMG-208; AMG-337; MK-8033; E-7050; EMD-1204831; EMD-1214063; amuvatinib; BMS-817378; DP-3590; ASP-08001; HM-5016504; PF-4217903; SGX523; anticuerpos o moléculas relacionadas, tales como por ejemplo fíclatuzumab, onartuzumab, rilotuzumab, Tak-701, LA-480;

45 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.

50 En una realización, las combinaciones para uso de acuerdo con la presente invención o las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención comprenden al menos un agente terapéutico adicional, en particular al menos un agente anticanceroso o adyuvante adicional, especialmente para uso como medicamento, más específicamente para uso en el tratamiento del cáncer o enfermedades relacionadas.

55 Ejemplos de agentes o adyuvantes contra el cáncer (agentes de apoyo en la terapia) que pueden estar comprendidos en las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención incluyen:

- compuestos de coordinación de platino, por ejemplo cisplatino opcionalmente combinado con amifostina, carboplatino u oxaliplatino;
 - compuestos de taxano, por ejemplo paclitaxel, partículas unidas a proteína de paclitaxel (Abraxane^{MR}) o docetaxel;
- 5 - inhibidores de la topoisomerasa I tales como compuestos de camptotecina, por ejemplo, irinotecano, SN-38, topotecano, clorhidrato de topotecano;
- inhibidores de la topoisomerasa II tales como epipodofilotoxinas antitumorales o derivados de podofilotoxina, por ejemplo etopósido, fosfato de etopósido o tenipósido;
 - alcaloides de la vinca antitumorales, por ejemplo, vinblastina, vincristina o vinorelbina;
- 10 - derivados de nucleósidos antitumorales, por ejemplo, 5-fluorouracilo, leucovorina, gemcitabina, clorhidrato de gemcitabina, capecitabina, cladribina, fludarabina, nelarabina;
- agentes alquilantes tales como mostaza nitrogenada o nitrosourea, por ejemplo ciclofosfamida, clorambucilo, carmustina, tiotepa, mefalan (melfalán), lomustina, altretamina, busulfán, dacarbazina, estramustina, ifosfamida opcionalmente en combinación con mesna, pipobromano, procarbazina, estreptozocina, temozolomida, uracilo;
- 15 - derivados de antraciclina antitumorales, por ejemplo daunorrubicina, doxorrubicina opcionalmente en combinación con dextrazoxano, doxilo, idarrubicina, mitoxantrona, epirrubicina, clorhidrato de epirrubicina, valrubicina;
- derivados de tetracarcina, por ejemplo, tetrocarcina A;
- 20 - glucocorticoides, por ejemplo, prednisona;
- anticuerpos, por ejemplo, trastuzumab (anticuerpo HER2), rituximab (anticuerpo CD20), gemtuzumab, gemtuzumab ozogamicina, cetuximab, pertuzumab, bevacizumab, alemtuzumab, eculizumab, ibritumomab tiuxetano, nafetumomab, panitumumab, tositumomab, CNTO 328;
- 25 - antagonistas del receptor de estrógeno o moduladores selectivos del receptor de estrógeno o inhibidores de la síntesis de estrógeno, por ejemplo, tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, droloxifeno, faslodex, raloxifeno o letrozol;
- inhibidores de aromatasa tales como exemestano, anastrozol, letrozol, testolactona y vorozol;
 - agentes diferenciadores tales como retinoides, vitamina D o ácido retinoico y agentes bloqueadores del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA) por ejemplo accutane;
- 30 - Inhibidores de la ADN metil transferasa, por ejemplo, azacitidina o decitabina;
- antifolatos por ejemplo premetrexed disódico;
 - antibióticos, por ejemplo, actinomicina D, bleomicina, mitomicina C, dactinomicina, carminomicina, daunomicina, levamisol, plicamicina, mitramicina;
- 35 - antimetabolitos, por ejemplo, clofarabina, aminopterina, arabinósido de citosina o metotrexato, azacitidina, citarabina, floxuridina, pentostatina, tioguanina;
- agentes inductores de apoptosis y agentes antiangiogénicos tales como inhibidores de Bcl-2, por ejemplo YC 137, BH 312, ABT 737, gosipol, HA 14-1, TW 37 o ácido decanoico;
 - agentes de unión a tubulina, por ejemplo, combrestatina, colchicinas o nocodazol;
- 40 - inhibidores de la quinasa (por ejemplo, inhibidores de EGFR (receptor del factor de crecimiento epitelial), MTKI (inhibidores de quinasa multiobjetivo), inhibidores de mTOR), por ejemplo, flavopiridol, mesilato de imatinib, erlotinib, gefitinib, dasatinib, lapatinib, ditosilato de lapatinib, sorafenib, sunitinib, maleato de sunitinib, temsirolimus;
- inhibidores de la farnesil transferasa, por ejemplo, tipifarnib;
- 45 - inhibidores de histona desacetilasa (HDAC), por ejemplo butirato de sodio, ácido suberoilaniida hidroxamida (SAHA), depsipeptido (FR 901228), NVP-LAQ824, R306465, JNJ-26481585, tricostatina A, vorinostat;
- Inhibidores de la ruta ubiquitina-proteasoma, por ejemplo, PS-341, MLN .41 o bortezomib;

- Yondelis;
- Inhibidores de la telomerasa, por ejemplo, telomestatina;
- Inhibidores de la metaloproteinasa de matriz, por ejemplo batimastat, marimastat, prinostat o metastat.
- Interleucinas recombinantes, por ejemplo, aldesleucina, denileucina diftitox, interferón alfa 2a, interferón alfa 2b, peginterferón alfa 2b
- Inhibidores de MAPK
- Retinoides, por ejemplo, alitretinoína, bexaroteno, tretinoína
- Trióxido de arsénico
- Asparaginasa
- 10 - Esteroideos, por ejemplo, propionato de dromostanolona, acetato de megestrol, nandrolona (decanoato, fenpropionato), dexametasona
- Agonistas o antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropina, por ejemplo, abarelix, acetato de goserelina, acetato de histrelina, acetato de leuprolida
- Talidomida, lenalidomida
- 15 - Mercaptopericina, mitotano, pamidronato, pegademasa, pegaspargasa, rasburicasa
- Miméticos de BH3, por ejemplo ABT-737
- Inhibidores de MEK, por ejemplo, PD98059, AZD6244, CI-1040
- análogos del factor estimulante de colonias, por ejemplo, filgrastim, pegfilgrastim, sargramostim; eritropoyetina o análogos de la misma (por ejemplo, darbepoetina alfa); interleucina 11; oprelvekina; zoledronato, ácido zoledrónico; fentanilo; bisfosfonato; palifermina
- 20 - un inhibidor de 17 alfa-hidroxilasa-17,20-lasa del citocromo P450 esteroide (CYP17), por ejemplo, abiraterona, acetato de abiraterona.

Las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención también tienen aplicaciones terapéuticas en la sensibilización de células tumorales para radioterapia y quimioterapia.

25 Por tanto, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden usarse como "radiosensibilizadores" y/o "quimiosensibilizadores" o pueden administrarse en combinación con otro compuesto "radiosensibilizador" y/o compuesto "quimiosensibilizador".

30 El término "radiosensibilizador" o compuesto "radiosensibilizador", como se usa en el presente documento, se define como una combinación o formulación farmacéutica de la presente invención, o una molécula, preferiblemente una molécula de bajo peso molecular, que cuando se administra a animales en cantidades terapéuticamente eficaces aumenta la sensibilidad de las células a la radiación ionizante y/o promueven el tratamiento de enfermedades que se pueden tratar con radiación ionizante.

35 El término "quimiosensibilizador" o compuesto "quimiosensibilizador", como se usa en este documento, se define como una combinación o composición farmacéutica de la presente invención, o una molécula, preferiblemente una molécula de bajo peso molecular, que cuando se administra a animales en cantidades terapéuticamente eficaces aumenta la sensibilidad de las células a la quimioterapia y/o promueven el tratamiento de enfermedades que se pueden tratar con compuestos quimioterapéuticos.

40 Se han sugerido en la bibliografía varios mecanismos para el modo de acción de los radiosensibilizadores que incluyen: radiosensibilizadores de células hipóxicas (por ejemplo, compuestos de 2-nitroimidazol y compuestos de dióxido de benzotriazina) que imitan el oxígeno o se comportan alternativamente como agentes biorreductores bajo hipoxia; los radiosensibilizadores de células no hipóxicas (por ejemplo, pirimidinas halogenadas) pueden ser análogos de las bases de ADN e incorporarse preferentemente en el ADN de las células cancerosas y de ese modo promover la ruptura inducida por radiación de las moléculas de ADN y/o prevenir los mecanismos normales de reparación del ADN; y se han formulado la hipótesis de varios otros posibles mecanismos de acción de los radiosensibilizadores en el tratamiento de enfermedades.

45 Muchos protocolos de tratamiento del cáncer emplean actualmente radiosensibilizadores junto con la radiación de rayos X. Ejemplos de radiosensibilizadores activados por rayos X incluyen, los siguientes: metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, EO9, RB 6145, nicotinamida, 5-bromodesoxiuridina (BUdR), 5-yododesoxiuridina (IUDR), bromodesoxicitidina,

fluorodesoxiuridina (FudR), hidroxiurea, cisplatino y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.

La terapia fotodinámica (TFD) de cánceres emplea luz visible como activador de radiación del agente sensibilizante. Los ejemplos de radiosensibilizadores fotodinámicos incluyen los siguientes: derivados de 5 hematoporfirina, fotofrina, derivados de benzoporfirina, etioporfirina de estaño, feoforbidasa, bacterioclorofila, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de zinc y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos. Los radiosensibilizadores pueden administrarse junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de otros compuestos, que incluyen: compuestos que promueven la incorporación de radiosensibilizadores a las células diana; compuestos que controlan el flujo de agentes terapéuticos, nutrientes 10 y/u oxígeno a las células diana; agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el tumor con o sin radiación adicional; u otros compuestos terapéuticamente eficaces para tratar el cáncer u otras enfermedades.

Los quimiosensibilizadores pueden administrarse junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de otros compuestos, que incluyen: compuestos que promueven la incorporación de quimiosensibilizadores a las células diana; compuestos que controlan el flujo de agentes terapéuticos, nutrientes y/u oxígeno a las 15 células diana; agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el tumor u otros compuestos terapéuticamente eficaces para tratar el cáncer u otra enfermedad. Los antagonistas del calcio, por ejemplo el verapamilo, se encuentran útiles en combinación con agentes antineoplásicos para establecer la quimiosensibilidad en las células tumorales resistentes a los agentes quimioterapéuticos aceptados y para potenciar la eficacia de tales compuestos en las neoplasias sensibles a los fármacos.

20 Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una combinación de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por FGFR, en particular cáncer.

Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una composición farmacéutica de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por FGFR, en particular cáncer.

25 Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una combinación de la presente invención para la fabricación de un medicamento para la prevención de la resistencia de un tumor o cáncer al inhibidor de FGFR de la combinación o para el retraso de la resistencia de un tumor o cáncer al inhibidor de FGFR de la combinación.

Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una composición farmacéutica de la presente invención para la fabricación de un medicamento para la prevención de la resistencia de un tumor o cáncer al inhibidor de FGFR 30 de la composición farmacéutica o para el retraso de la resistencia de un tumor o cáncer al inhibidor de FGFR de la composición farmacéutica.

Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una combinación de la presente invención para la fabricación de un medicamento para la prevención de la aparición de resistencia de un tumor o cáncer al inhibidor de FGFR de la combinación o para el retraso de la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al inhibidor de FGFR de la combinación.

35 Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una composición farmacéutica de la presente invención para la fabricación de un medicamento para la prevención de la aparición de resistencia de un tumor o cáncer al inhibidor de FGFR de la combinación o para el retraso de la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al inhibidor de FGFR de la combinación farmacéutica.

40 Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una combinación de la presente invención para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento, en particular para el tratamiento, de un tumor o cáncer en el que la activación de la vía de señalización de Met es un mecanismo de resistencia del tumor o el cáncer a un inhibidor de FGFR.

45 Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una composición farmacéutica de la presente invención para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento, en particular para el tratamiento, de un tumor o cáncer en el que la activación de la vía de señalización de Met es un mecanismo de resistencia del tumor o el cáncer a un inhibidor de FGFR.

50 Se divulga (pero no se reivindica) el uso de un inhibidor de cMet, en particular un inhibidor de cMet como se describe en el presente documento, más en particular el compuesto C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y el compuesto D o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, para prevenir la resistencia, retrasar la resistencia, prevenir la aparición de resistencia o retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer a un inhibidor de FGFR, en particular un inhibidor de FGFR como se describe en el presente documento.

55 Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una combinación de la presente invención para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento, en particular para el tratamiento, de un tumor o cáncer mediado por una quinasa del FGFR y que tiene una expresión de Met alta.

Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una composición farmacéutica de la presente invención para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento, en particular para el tratamiento, de un tumor o cáncer mediado por una quinasa del FGFR y que tiene una expresión de Met alta.

5 Las formas de sal de los compuestos de las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención son típicamente sales farmacéuticamente aceptables, y se analizan ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables en Berge et al. (1977) "Pharmaceutically Acceptable Salts", J. Pharm. Sci., Vol. 66, págs. 1-19. Sin embargo, las sales que no son farmacéuticamente aceptables también se pueden preparar como formas intermedias que luego se pueden convertir en sales farmacéuticamente aceptables. Se divultan (pero no se reivindican) tales formas de sales no farmacéuticamente aceptables, que

10 pueden ser útiles, por ejemplo, en la purificación o separación de los compuestos de la invención.

Las sales de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto original que contiene una fracción básica o ácida mediante métodos químicos convencionales tales como los métodos descritos en Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, tapa dura, 388 páginas, agosto de 2002. Generalmente, tales sales pueden prepararse 15 haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se utilizan medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Los compuestos de la invención pueden existir como mono o disales dependiendo del pKa del ácido a partir del cual se forma la sal.

20 Las sales de adición de ácido se pueden formar con una amplia variedad de ácidos, tanto inorgánicos como orgánicos. Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen sales formadas con un ácido seleccionado del grupo que consiste en ácidos acético, 2,2-dicloroacético, adípico, algínico, ascórbico (por ejemplo, L-ascórbico), L-aspártico, bencenosulfónico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+)-alcanfórico, alcanfor-sulfónico, (+)-(1S)-alcanfor-10-sulfónico, cáprico, caproico, caprílico, cinámico, cítrico, ciclámico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-disulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, fórmico, fumárico, galáctico, gentísico, glucoheptónico, 25 D-glucónico, glucurónico (por ejemplo, D-glucurónico), glutámico (por ejemplo, L-glutámico), α -oxoglutárico, glicólico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, isetiónico, láctico (por ejemplo (+)-L-láctico, (\pm)-DL-láctico), lactobiónico, maleico, málico, (-)-L-málico, malónico, (\pm)-DL-mandélico, metanosulfónico, naftalenosulfónico (por ejemplo, naftaleno-2-sulfónico), naftaleno-1,5-disulfónico, 1-hidroxi-2-naftoico, 30 nicotínico, nítrico, oleico, orótico, oxálico, palmitico, pamoico, fosfórico, propiónico, L-piroglutámico, pirúvico, salicílico, 4-amino-salicílico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tánico, (+)-L-tartárico, tiociánico, toluenosulfónico (por ejemplo, p-toluenosulfónico), undecilénico y valérico, así como aminoácidos acilados y resinas de intercambio catiónico.

35 Un grupo particular de sales se compone de sales formadas a partir de ácidos acético, clorhídrico, yodhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, cítrico, láctico, succínico, maleico, málico, isetiónico, fumárico, bencenosulfónico, toluensulfónico, metanosulfónico (mesilato), etanosulfónico, naftalenosulfónico, valérico, acético, propanoico, butanoico, malónico, glucurónico y lactobiónico. Otro grupo de sales de adición de ácido incluye sales formadas a partir de los ácidos acético, adípico, ascórbico, aspártico, cítrico, DL-láctico, fumárico, glucónico, glucurónico, 40 hipúrico, clorhídrico, glutámico, DL-málico, metanosulfónico, sebácico, esteárico, succínico y tartárico.

45 Si el compuesto es aniónico o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico, entonces se puede formar una sal con un catión adecuado. Ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen iones de metales alcalinos tales como Na^+ y K^+ , cationes de metales alcalinotérreos tales como Ca^{2+} y Mg^{2+} y otros cationes tales como Al^{3+} . Los ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen iones amonio (es decir, NH_4^+) e iones amonio sustituidos (p. ej., NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+).

45 Los ejemplos de algunos iones amonio sustituidos adecuados son los derivados de: etilamina, dietilamina, diciclohexilamina, trietilamina, butilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, bencilamina, fenilbencilamina, colina, meglumina y trometamina, así como aminoácidos, tales como lisina y arginina. Un ejemplo de un ión amonio cuaternario común es $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

50 En una realización, las sales farmacéuticamente aceptables de los inhibidores de FGFR o los inhibidores de cMet de las combinaciones o las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención son sales de adición de ácido.

En una realización, las combinaciones o las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención comprenden una sal del compuesto A, compuesto B o compuesto C como se describió anteriormente en la presente invención en la sección de antecedentes de la invención.

55 En una realización, las combinaciones o las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención comprenden el inhibidor de FGFR en forma de base libre.

En una realización, las combinaciones o las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención comprenden el inhibidor de cMet en forma de base libre.

En una realización, las combinaciones o las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención comprenden el inhibidor de FGFR y el inhibidor de cMet en forma de base libre.

Los compuestos de las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden formar solvatos, por ejemplo con agua (es decir, hidratos) o disolventes orgánicos comunes.

5 Como se usa en este documento, el término "solvato" significa una asociación física de los compuestos de la presente invención con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física implica diversos grados de enlaces iónicos y covalentes, incluidos los enlaces de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato podrá aislarse, por ejemplo, cuando se incorporen una o más moléculas de disolvente en la red cristalina del sólido cristalino. El término "solvato" pretende abarcar tanto solvatos en fase de solución como solvatos aislados. Los ejemplos 10 no limitantes de solvatos adecuados incluyen compuestos de la invención en combinación con agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético o etanolamina. Los compuestos de la invención pueden ejercer sus efectos biológicos mientras están en solución. Los solvatos de las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención también se incluyen en el término "solvato".

15 Los solvatos son bien conocidos en química farmacéutica. Pueden ser importantes para los procesos de preparación de una sustancia (por ejemplo, en relación con su purificación, el almacenamiento de la sustancia (por ejemplo, su estabilidad) y la facilidad de manipulación de la sustancia y, a menudo, se forman como parte de las etapas de aislamiento o purificación de una síntesis química. Una persona experta en la técnica puede 20 determinar mediante técnicas estándar y muy utilizadas si se ha formado un hidrato u otro solvato mediante las condiciones de aislamiento o las condiciones de purificación utilizadas para preparar un compuesto dado. Ejemplos de tales técnicas incluyen análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC), cristalográfica de rayos X (por ejemplo, cristalográfica de rayos X de cristales individuales o difracción de rayos X en polvo) y RMN de estado sólido (RMN SS, también conocida como RMN de giro de ángulo mágico o RMN MAS). Tales técnicas son una parte tan importante del conjunto de herramientas analíticas estándar del químico 25 experto como la RMN, IR, HPLC y MS. Alternativamente, la persona experta puede formar deliberadamente un solvato usando condiciones de cristalización que incluyen una cantidad de disolvente requerida para el solvato particular. A continuación, se pueden utilizar los métodos estándar descritos anteriormente para establecer si se han formado solvatos. Los compuestos que se describen en el presente documento también abarcan cualquier complejo (por ejemplo, complejos de inclusión o clatratos con compuestos tales como ciclodextrinas, 30 o complejos con metales) de los compuestos.

Además, los compuestos de combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden tener una o más formas polimorfas (cristalinas) o amorfas y, como tales, se pretende que estén incluidas en la invención.

35 En una realización, las combinaciones o las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención comprenden un polimorfo o solvato del compuesto C como se describió anteriormente en el presente documento en la sección de antecedentes de la invención.

Como se usa en este documento, el término "modulación", tal como se aplica a la actividad de una quinasa, 40 está destinado a definir un cambio en el nivel de actividad biológica de la proteína quinasa. Por tanto, la modulación abarca cambios fisiológicos que efectúan un aumento o disminución de la actividad de la proteína quinasa relevante. En el último caso, la modulación puede describirse como "inhibición". La modulación puede surgir directa o indirectamente, y puede estar mediada por cualquier mecanismo y a cualquier nivel fisiológico, incluido, por ejemplo, a nivel de expresión génica (incluyendo por ejemplo transcripción, traducción y/o modificación postraduccional), a nivel de expresión de genes que codifican elementos reguladores que actúan directa o indirectamente sobre los niveles de actividad quinasa. Por lo tanto, la modulación puede implicar una 45 expresión elevada/suprimida o una expresión excesiva o insuficiente de una quinasa, incluida la amplificación de genes (es decir, múltiples copias de genes) y/o una expresión aumentada o disminuida por un efecto transcripcional, así como hiperactividad o hipoactividad y (des)activación de la o las proteína quinasas (incluida la (des)activación) por mutación o mutaciones. Los términos "modulado", "modulando" y "modular" deben interpretarse en consecuencia.

50 Como se usa en este documento, el término "mediado", como se usa, por ejemplo, junto con una quinasa como se describe en este documento (y se aplica, por ejemplo, a varios procesos, enfermedades, estados, afecciones, terapias, tratamientos o intervenciones fisiológicos) está destinado a operar de manera limitativa para que los diversos procesos, enfermedades, estados, afecciones, tratamientos e intervenciones a los que se aplica el término son aquellos en los que la quinasa desempeña un papel biológico. En los casos en los que 55 el término se aplica a una enfermedad, estado o afección, el papel biológico que desempeña una quinasa puede ser directo o indirecto y puede ser necesario y/o suficiente para la manifestación de los síntomas de la enfermedad, estado o afección (o su etiología o progresión). Por lo tanto, la actividad de la quinasa (y en particular los niveles aberrantes de la actividad de la quinasa, por ejemplo, la sobreexpresión de la quinasa) no tiene que ser necesariamente la causa próxima de la enfermedad, estado o afección: más bien, se contempla que las enfermedades, estados o afecciones mediados por quinasas incluyen aquellos que tienen etiologías multifactoriales y progresiones complejas en las que la quinasa en cuestión está involucrada solo parcialmente.

En los casos en los que el término se aplica a tratamiento, profilaxis o intervención, el papel que juega la quinasa puede ser directo o indirecto y puede ser necesario y/o suficiente para el funcionamiento del tratamiento, profilaxis o resultado de la intervención. Por lo tanto, una enfermedad, estado o afección mediada por una quinasa incluye el desarrollo de resistencia a cualquier fármaco o tratamiento contra el cáncer en particular.

Así, por ejemplo, las combinaciones o las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles para aliviar o reducir la incidencia de cáncer.

Los inhibidores de FGFR de las combinaciones y composiciones farmacéuticas tienen actividad contra FGFR1, FGFR2, FGFR3 y/o FGFR4, y en particular contra FGFR1, FGFR2, FGFR3 y FGFR4.

Como consecuencia de su actividad para modular o inhibir FGFR, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención serán útiles para proporcionar un medio para prevenir el crecimiento o inducir la apoptosis de neoplasias, particularmente inhibiendo la angiogénesis. Por lo tanto, se anticipa que las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención resultarán útiles para tratar o prevenir trastornos proliferativos tales como cánceres. Además, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención podrían ser útiles en el tratamiento de enfermedades en las que existe un trastorno de proliferación, apoptosis o diferenciación.

Los ejemplos de cánceres que pueden ser tratados (o inhibidos) por las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención incluyen un carcinoma, por ejemplo, un carcinoma de vejiga, mama, colon (por ejemplo, carcinomas colorrectales tales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), riñón, urotelial, útero, epidermis, hígado, pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma, cáncer de pulmón de células pequeñas y carcinomas de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón escamoso), esófago, cabeza y cuello, vesícula biliar, ovario, páncreas (por ejemplo, carcinoma pancreático exocrino), cáncer de estómago, gastrointestinal (también conocido como gástrico) (por ejemplo, tumores del estroma gastrointestinal), cuello uterino, endometrio, tiroides, próstata o piel (por ejemplo, carcinoma de células escamosas o dermatofibrosarcoma protuberans); cáncer de pituitaria, un tumor hematopoyético de linaje linfoide, por ejemplo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, linfoma de células B (por ejemplo, linfoma de células B grandes difusas), linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas o linfoma de Burkitt; un tumor hematopoyético de linaje mieloide, por ejemplo leucemias, leucemias mielógenas agudas y crónicas, leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), trastorno mieloproliferativo, síndrome mieloproliferativo, síndrome mielodisplásico o leucemia promielocítica; mieloma múltiple; cáncer folicular de tiroides; cáncer hepatocelular, un tumor de origen mesenquimatoso (por ejemplo, sarcoma de Ewing), por ejemplo fibrosarcoma o rhabdomiosarcoma; un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo, astrocitoma, neuroblastoma, glioma (tal como glioblastoma multiforme) o schwannoma; melanoma; seminoma; teratocarcinoma; osteosarcoma; xeroderma pigmentoso; queratoctantoma; cáncer folicular de tiroides; o sarcoma de Kaposi. En particular, cáncer de pulmón escamoso, cáncer de mama, cáncer colorrectal, glioblastoma, astrocitomas, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides, cáncer de útero, cáncer gástrico, cáncer hepatocelular, cáncer de cuello uterino, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de endometrio, cáncer de urotelial, cáncer de colon, rhabdomiosarcoma, cáncer de glándula pituitaria.

Los ejemplos de cánceres que pueden tratarse (o inhibirse) incluyen cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer urotelial metastásico, cáncer urotelial no resecable quirúrgicamente, cáncer de mama, glioblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células escamosas, adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma pulmonar, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de cuello uterino, sarcoma de tejidos blandos, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer gástrico, cáncer de esófago, carcinoma de células escamosas de esófago, adenocarcinoma de esófago, colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelular.

Ciertos cánceres son resistentes al tratamiento con fármacos particulares. Esto puede deberse al tipo de tumor o puede surgir debido al tratamiento con el compuesto. En este sentido, las referencias al mieloma múltiple incluyen mieloma múltiple sensible a bortezomib o mieloma múltiple refractario. De manera similar, las referencias a la leucemia mielógena crónica incluyen leucemia mielógena crónica sensible al imatinib y leucemia mielógena crónica refractaria. La leucemia mielógena crónica también se conoce como leucemia mieloide crónica, leucemia granulocítica crónica o LGC. Asimismo, la leucemia mielógena aguda, también se denomina leucemia mieloblástica aguda, leucemia granulocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda o LMA.

Las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención también se pueden usar en el tratamiento de enfermedades hematopoyéticas de proliferación celular anormal, ya sean premalignas o estables, tales como enfermedades mieloproliferativas. Las enfermedades mieloproliferativas ("EMP") son un grupo de enfermedades de la médula ósea en las que se produce un exceso de células. Están relacionados con, y pueden evolucionar en, síndrome mielodisplásico. Las enfermedades mieloproliferativas incluyen policitemia vera, trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria. Un trastorno hematológico adicional

es el síndrome hipereosinofílico. Las enfermedades linfoproliferativas de células T incluyen las derivadas de células asesinas naturales.

Además, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden usarse para tratar el cáncer gastrointestinal (también conocido como gástrico), por ejemplo, tumores del estroma gastrointestinal. El cáncer gastrointestinal se refiere a afecciones malignas del tracto gastrointestinal, incluidos el esófago, el estómago, el hígado, el sistema biliar, el páncreas, los intestinos y el ano.

Por tanto, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la invención están destinadas a retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer a un inhibidor de FGFR.

10 Los subconjuntos particulares de cánceres incluyen mieloma múltiple, carcinomas de vejiga, cervical, de próstata y tiroides, cánceres de pulmón, mama y colon.

Un subconjunto adicional de cánceres incluye mieloma múltiple, carcinoma de vejiga, hepatocelular, oral de células escamosas y carcinomas cervicales.

15 Otro subconjunto de cánceres incluye cáncer de vejiga, pulmón, mama, gástrico, hepatocelular, colon, neoplasias malignas hematológicas, ovario, glioblastoma.

Un subconjunto adicional de cánceres incluye cáncer de vejiga, pulmón, mama, gástrico y hepatocelular.

Las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención, que tienen actividad inhibitoria de FGFR tal como FGFR1, pueden ser particularmente útiles en el tratamiento o prevención del cáncer de mama en particular los carcinomas lobulares clásicos (CLC).

20 Como las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención tienen actividad de FGFR4, también serán útiles en el tratamiento de cánceres de próstata o pituitaria, o serán útiles en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de hígado (HCC) o cáncer de pulmón.

25 En particular, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención que comprenden inhibidores de FGFR, son útiles en el tratamiento de mieloma múltiple, trastornos mieloproliferativos, cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer colorrectal y carcinoma oral de células escamosas.

Otros subconjuntos de cáncer son mieloma múltiple, cáncer de endometrio, cáncer de vejiga, cáncer de cuello uterino, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer colorrectal y carcinomas de tiroides.

30 En particular, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención son útiles en el tratamiento de mieloma múltiple (en particular mieloma múltiple con translocación t (4; 14) o sobreexpresión de FGFR3), cáncer de próstata (carcinomas de próstata refractarios a hormonas), cáncer endometrial (en particular tumores endometriales con mutaciones activadoras en FGFR2) y cáncer de mama (en particular cáncer de mama lobular).

35 En particular, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención son útiles en el tratamiento de carcinomas lobulares tales como CLC (carcinoma lobular clásico).

Como las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención tienen actividad contra FGFR3, serán útiles en el tratamiento de mieloma múltiple y cáncer de vejiga.

40 En particular, los compuestos tienen actividad contra tumores con translocación de FGFR3-TACC3, en particular tumores de vejiga o cerebro con translocación de FGFR3-TACC3.

En particular, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención son útiles para el tratamiento del mieloma múltiple positivo para translocación t(4; 14).

45 En una realización, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento del sarcoma. En una realización, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer de pulmón, por ejemplo, carcinoma de células escamosas.

50 Como las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención tienen actividad contra FGFR2, serán útiles en el tratamiento de cánceres endometrial, ovárico, gástrico, hepatocelular, uterino, de cuello uterino y colorrectal. FGFR2 también se sobreexpresa en el cáncer de ovario epitelial, por lo que las combinaciones o composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser específicamente útiles en el tratamiento del cáncer de ovario tal como el cáncer de ovario epitelial.

En una realización, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer de pulmón, en particular CPCNP (cáncer de pulmón de células no pequeñas), carcinoma de células escamosas, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de próstata.

5 Las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención también pueden ser útiles en el tratamiento de tumores pretratados con inhibidor de VEGFR2 o anticuerpo de VEGFR2 (por ejemplo, Avastina).

10 En particular, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de tumores resistentes a VEGFR2. Los inhibidores y anticuerpos de VEGFR2 se usan en el tratamiento de carcinomas de células renales y de tiroides, por lo que las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de carcinomas de células renales y de tiroides resistentes a VEGFR2.

15 Los cánceres pueden ser cánceres que son sensibles a la inhibición de uno o más FGFR seleccionados entre FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, por ejemplo, uno o más FGFR seleccionados entre FGFR1, FGFR2 o FGFR3.

Si un cáncer particular es o no sensible a la inhibición de la señalización de FGFR puede determinarse mediante un ensayo de crecimiento celular como se establece a continuación o mediante un método como se establece en la sección titulada "Métodos de diagnóstico".

20 Los inhibidores de FGFR para uso de acuerdo con la invención pueden ser particularmente útiles en el tratamiento o prevención de cánceres de un tipo asociado o caracterizado por la presencia de niveles elevados de FGFR, por ejemplo los cánceres mencionados en este contexto en la sección introductoria de esta solicitud.

Las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento de la población adulta. Las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento de la población pediátrica.

25 Las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles para tratar otras afecciones que resultan de trastornos en la proliferación tales como diabetes mellitus tipo II o no insulinodependiente, enfermedades autoinmunes, trauma de cabeza, accidente cerebrovascular, epilepsia, enfermedades neurodegenerativas tales como como Alzheimer, enfermedad de neuronas motoras, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal y enfermedad de Pick, por ejemplo, enfermedades autoinmunes y enfermedades neurodegenerativas.

30 Un subgrupo de estados de enfermedad y afecciones en los que las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles consiste en enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares y cicatrización de heridas.

35 También se sabe que FGFR juega un papel en la apoptosis, angiogénesis, proliferación, diferenciación y transcripción y, por lo tanto, los compuestos, combinaciones y composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento también podrían ser útiles en el tratamiento de las siguientes enfermedades distintas del cáncer (aunque estas no son reivindicadas); enfermedades inflamatorias crónicas, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis mediada por autoinmunidad, artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, diabetes mellitus autoinmune, reacciones de hipersensibilidad al eccema, asma, EPOC, rinitis y enfermedad del tracto respiratorio superior; enfermedades cardiovasculares, por ejemplo, hipertrofia cardíaca, reestenosis, aterosclerosis; trastornos neurodegenerativos, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, demencia relacionada con el SIDA, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, retinitis pigmentosa, atrofia muscular espinal y degeneración cerebelosa; glomerulonefritis; síndromes mielodisplásicos, infartos de miocardio asociados a lesión isquémica, accidente cerebrovascular y lesión por reperfusión, arritmia, aterosclerosis, enfermedades hepáticas inducidas por toxinas o relacionadas con el alcohol, enfermedades hematológicas, por ejemplo, anemia crónica y anemia aplásica; enfermedades degenerativas del sistema musculoesquelético, por ejemplo, osteoporosis y artritis, rinosinusitis sensible a la aspirina, fibrosis quística, esclerosis múltiple, enfermedades renales y dolor por cáncer.

50 Además, las mutaciones de FGFR2 están asociadas con varias anomalías graves en el desarrollo esquelético humano y, por lo tanto, los compuestos divulgados en el presente documento podrían ser útiles en el tratamiento de (aunque no se reivindiquen) anomalías en el desarrollo esquelético humano, incluida la osificación anormal de suturas craneales (craneosinostosis), síndrome de Apert (AP), síndrome de Crouzon, síndrome de Jackson-Weiss, síndrome de cutis gyrata de Beare-Stevenson y síndrome de Pfeiffer.

55 Las combinaciones o composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento, que tienen actividad inhibidora de FGFR tal como FGFR2 o FGFR3, pueden ser particularmente útiles en el tratamiento o prevención de (aunque no se reivindiquen) las enfermedades esqueléticas. Las enfermedades esqueléticas particulares son acondroplasia o el enanismo tanatofórico (también conocido como displasia tanatofórica).

Las combinaciones o composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento, que tienen actividad inhibidora de FGFR tal como FGFR1, FGFR2 o FGFR3, pueden ser particularmente útiles en el tratamiento o prevención (aunque no se reivindiquen) de patologías en las que la fibrosis progresiva es un síntoma. Las afecciones fibróticas en las que los compuestos divulgados en el presente documento pueden ser útiles en el tratamiento (aunque no se reivindiquen) incluyen enfermedades que presentan deposición anormal o excesiva de tejido fibroso, por ejemplo, en cirrosis hepática, glomerulonefritis, fibrosis pulmonar, fibrosis sistémica, artritis reumatoide, así como el proceso natural de cicatrización de la herida. En particular, los compuestos, combinaciones y composiciones farmacéuticas divulgados en el presente documento también pueden ser útiles en el tratamiento de (aunque no se reivindiquen) la fibrosis pulmonar, en particular en la fibrosis pulmonar idiopática.

La sobreexpresión y activación de FGFR en la vasculatura asociada a tumores también ha sugerido un papel para las combinaciones o composiciones farmacéuticas de la presente invención en la prevención y la interrupción del inicio de la angiogénesis tumoral. En particular, las combinaciones o composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de cáncer, metástasis, leucemias tales como LLC, enfermedades oculares tales como degeneración macular relacionada con la edad en particular la forma húmeda de la degeneración macular relacionada con la edad, retinopatías proliferativas isquémicas tales como la retinopatía del prematuro (RDP) y la retinopatía diabética, la artritis reumatoide y el hemangioma.

La sobreexpresión y activación de FGFR en la vasculatura asociada a tumores también ha sugerido un papel para las combinaciones o composiciones farmacéuticas de la presente invención en la prevención y la interrupción del inicio de la angiogénesis tumoral. En particular, las combinaciones o composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer, la metástasis, las leucemias como la LLC, las enfermedades oculares como la degeneración macular relacionada con la edad, en particular la forma húmeda de la degeneración macular relacionada con la edad, las retinopatías proliferativas isquémicas como la retinopatía del prematuro (RDP) y la retinopatía diabética, la artritis reumatoide y el hemangioma.

La invención reivindicada se define en las reivindicaciones.

La enfermedad mediada por las quinasas FGFR puede ser una enfermedad relacionada con la oncología (por ejemplo, el cáncer). La enfermedad mediada por las quinasas FGFR puede ser una enfermedad no relacionada con la oncología (por ejemplo, cualquier enfermedad descrita en el presente documento, excluido el cáncer). La enfermedad mediada por las quinasas del FGFR puede ser una afección descrita en este documento. La enfermedad mediada por las quinasas del FGFR puede ser una afección esquelética descrita en este documento. Las anomalías particulares en el desarrollo esquelético humano incluyen la osificación anormal de las suturas craneales (craneosinostosis), el síndrome de Apert (AP), el síndrome de Crouzon, el síndrome de Jackson-Weiss, el síndrome de cutis girado de Beare-Stevenson, el síndrome de Pfeiffer, la acondroplasia y el enanismo tanatofórico (también conocido como displasia tanatofórica).

Quinasas mutadas

Pueden surgir mutaciones de quinasas resistentes a fármacos en poblaciones de pacientes tratados con inhibidores de quinasa. Estos ocurren, en parte, en las regiones de la proteína que se une o interactúa con el inhibidor particular usado en terapia. Tales mutaciones reducen o aumentan la capacidad del inhibidor para unirse e inhibir la quinasa en cuestión. Esto puede ocurrir en cualquiera de los residuos de aminoácidos que interactúan con el inhibidor o son importantes para apoyar la unión de dicho inhibidor a la diana. Un inhibidor que se une a una quinasa diana sin requerir la interacción con el residuo de aminoácido mutado probablemente no se verá afectado por la mutación y seguirá siendo un inhibidor eficaz de la enzima.

Un estudio en muestras de pacientes con cáncer gástrico mostró la presencia de dos mutaciones en FGFR2, Ser167Pro en el exón IIIa y una mutación en el sitio de empalme 940-2A-G en el exón IIIc. Estas mutaciones son idénticas a las mutaciones que activan la línea germinal que causan síndromes de craneosinostosis y se observaron en el 13% de los tejidos de cáncer gástrico primario estudiados. Además, se observaron mutaciones activadoras en FGFR3 en el 5% de las muestras de pacientes analizadas y la sobreexpresión de FGFR se ha correlacionado con un mal pronóstico en este grupo de pacientes.

Además, hay translocaciones cromosómicas o mutaciones puntuales que se han observado en FGFR que dan lugar a estados biológicos de ganancia de función, sobreexpresados o constitutivamente activos.

Por lo tanto, los compuestos, las combinaciones o las composiciones farmacéuticas de la invención encontrarían una aplicación particular en relación con los cánceres que expresan una diana molecular mutada tal como FGFR. El diagnóstico de tumores con tales mutaciones podría realizarse usando técnicas conocidas por un experto en la técnica y como se describe en el presente documento, tales como RTPCR y FISH.

Se ha sugerido que las mutaciones de un residuo de treonina conservado en el sitio de unión de ATP de FGFR darían como resultado resistencia al inhibidor. El aminoácido valina 561 ha sido mutado a una metionina en

FGFR1 que corresponde a mutaciones previamente reportadas encontradas en Abl (T315) y EGFR (T766) que se ha demostrado que confieren resistencia a inhibidores selectivos. Los datos del ensayo para FGFR1 V561M mostraron que esta mutación confería resistencia a un inhibidor de tirosina quinasa en comparación con la del tipo silvestre.

5 Métodos de diagnóstico (no reivindicado)

Antes de la administración de una combinación o composición farmacéutica como se describe en el presente documento, se puede examinar a un paciente para determinar si una enfermedad o afección que el paciente padece o puede estar padeciendo es susceptible de tratamiento con un compuesto que tenga actividad contra FGFR.

10 Por ejemplo, una muestra biológica tomada de un paciente puede analizarse para determinar si una afección o enfermedad, tal como el cáncer, que el paciente padece o puede padecer es una que se caracteriza por una anomalía genética o una expresión de proteína anormal que conduce a la sobreregulación de los niveles o la actividad de FGFR, o a la sensibilización de una vía a la actividad normal del FGFR, o a la sobreregulación de estas vías de señalización del factor de crecimiento, tales como los niveles de ligando del factor de crecimiento 15 o la actividad del ligando del factor de crecimiento, o a la sobreregulación de una vía bioquímica secuencia abajo de la activación de FGFR.

20 Los ejemplos de dichas anomalías que dan como resultado la activación o sensibilización de la señal de FGFR incluyen la pérdida o inhibición de las vías apoptóticas, la sobreregulación de los receptores o ligandos, o la presencia de variantes mutantes de los receptores o ligandos, por ejemplo, variantes de PTK. Los tumores con mutantes de FGFR1, FGFR2 o FGFR3 o FGFR4 o la sobreregulación, en particular la sobreexpresión de FGFR1, o mutantes con ganancia de función de FGFR2 o FGFR3 pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores de FGFR.

25 Por ejemplo, se han identificado mutaciones puntuales que generan ganancia de función en FGFR2 en una serie de condiciones. En particular, se han identificado mutaciones activadoras en FGFR2 en el 10% de los tumores endometriales.

30 Además, se han identificado aberraciones genéticas del receptor de tirosina quinasa FGFR3 tales como translocaciones cromosómicas o mutaciones puntuales que dan como resultado receptores FGFR3 expresados ectópicamente o desregulados, constitutivamente activos y están vinculados a un subconjunto de mielomas múltiples, carcinomas de vejiga y cuello uterino. Se ha identificado una mutación particular T674I del receptor de PDGF en pacientes tratados con imatinib. Además, se demostró una amplificación génica de 8p 12-p 11.2 en aproximadamente el 50% de los casos de cáncer de mama lobular (CML) y se demostró que esto estaba relacionado con una mayor expresión de FGFR1. Los estudios preliminares con ARNpi dirigido contra FGFR1, o un inhibidor de molécula pequeña del receptor, mostraron que las líneas celulares que albergan esta amplificación son particularmente sensibles a la inhibición de esta vía de señalización.

35 Alternativamente, una muestra biológica tomada de un paciente puede analizarse para determinar la pérdida de un regulador negativo o supresor de FGFR. En el presente contexto, el término "pérdida" abarca la eliminación de un gen que codifica el regulador o supresor, el truncamiento del gen (por ejemplo, por mutación), el truncamiento del producto transcrita del gen o la inactivación del producto transcrita (por ejemplo, por mutación puntual) o secuestro por otro producto génico.

40 El término sobreregulación incluye expresión elevada o sobreexpresión, incluida la amplificación génica (es decir, múltiples copias de genes) y expresión aumentada mediante un efecto transcripcional, e hiperactividad y activación, incluida la activación por mutaciones. Por lo tanto, el paciente puede someterse a una prueba de diagnóstico para detectar un marcador característico de la sobreregulación de FGFR. El término diagnóstico incluye detección. Por marcador incluimos marcadores genéticos que incluyen, por ejemplo, la medición de la composición del ADN para identificar mutaciones de FGFR. El término marcador también incluye marcadores que son característicos de la sobreregulación de FGFR, incluida la actividad enzimática, los niveles de enzima, el estado de la enzima (por ejemplo, fosforilada o no) y los niveles de ARNm de las proteínas mencionadas anteriormente.

50 Las pruebas de diagnóstico y las pruebas de detección se realizan típicamente en una muestra biológica seleccionada de muestras de biopsia de tumor, muestras de sangre (aislamiento y enriquecimiento de células tumorales desprendidas), biopsias de heces, esputo, análisis de cromosomas, líquido pleural, líquido peritoneal, astas bucales, biopsia u orina.

55 Los expertos en la técnica conocen métodos de identificación y análisis de mutaciones y sobreregulación de proteínas. Los métodos de detección podrían incluir métodos estándar, tales como la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) o la hibridación *in situ*, tal como hibridación de fluorescencia *in situ* (FISH).

La identificación de un individuo que porta una mutación en FGFR puede significar que el paciente sería particularmente adecuado para el tratamiento con un inhibidor de FGFR. Los tumores se pueden detectar preferentemente para detectar la presencia de una variante de FGFR antes del tratamiento. El proceso de detección implicará típicamente secuenciación directa, análisis de microarreglos de oligonucleótidos o un anticuerpo específico mutante. Además, el diagnóstico de tumores con tales mutaciones podría realizarse usando técnicas conocidas por un experto en la técnica y como se describe en el presente documento, tales como RT-PCR y FISH.

Además, las formas mutantes de, por ejemplo, FGFR, pueden identificarse mediante secuenciación directa de, por ejemplo, biopsias tumorales usando PCR y métodos para secuenciar productos de PCR directamente como se describió anteriormente. El experto en la materia reconocerá que todas estas técnicas bien conocidas para la detección de la sobreexpresión, activación o mutaciones de las proteínas mencionadas anteriormente podrían ser aplicables en el presente caso.

En la detección por RT-PCR, el nivel de ARNm en el tumor se evalúa creando una copia de ADNc del ARNm seguido de amplificación del ADNc por PCR. Los métodos de amplificación por PCR, la selección de cebadores y las condiciones para la amplificación son conocidos por un experto en la técnica. Las manipulaciones de ácidos nucleicos y la PCR se llevan a cabo mediante métodos estándar, como se describe, por ejemplo, en Ausubel, F.M. et al., eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc., o Innis, MA et al., Eds. (1990) *PCR Protocols: A guide to methods and applications*, Academic Press, San Diego. Las reacciones y manipulaciones que implican técnicas de ácido nucleico también se describen en Sambrook et al., (2001), 3^a edición, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Alternativamente, se puede usar un kit disponible comercialmente para RT-PCR (por ejemplo, Roche Molecular Biochemicals), o una metodología como se establece en las patentes de los Estados Unidos Nos. 4.666.828; 4.683.202; 4.801.531; 5.192.659, 5.272.057, 5.882.864 y 6.218.529. Un ejemplo de una técnica de hibridación *in situ* para evaluar la expresión de ARNm sería la hibridación de fluorescencia *in situ* (FISH) (véase Angerer (1987) *Meth. Enzymol.*, 152: 649).

Generalmente, la hibridación *in situ* comprende las siguientes etapas principales: (1) fijación del tejido a analizar; (2) tratamiento de prehibridación de la muestra para aumentar la accesibilidad del ácido nucleico diana y para reducir la unión inespecífica; (3) hibridación de la mezcla de ácidos nucleicos con el ácido nucleico en la estructura biológica o tejido; (4) lavados posteriores a la hibridación para eliminar los fragmentos de ácido nucleico no unidos en la hibridación, y (5) detección de los fragmentos de ácido nucleico hibridados. Las sondas utilizadas en tales aplicaciones se marcan típicamente, por ejemplo, con radioisótopos o indicadores fluorescentes. Las sondas preferidas son suficientemente largas, por ejemplo, de 50, 100 o 200 nucleótidos a 1000 o más nucleótidos, para permitir la hibridación específica con el ácido o ácidos nucleicos diana en condiciones rigurosas. Los métodos estándar para realizar FISH se describen en Ausubel, F.M. et al., eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc y *Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview* de John M. S. Bartlett en *Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols*, 2^a ed.; ISBN: 1-59259-760-2; Marzo de 2004, páginas 077-088; Serie: *Methods in Molecular Medicine*.

Los métodos para el perfil de expresión génica son descritos por (DePrimo et al., (2003), *BMC Cancer*, 3:3). Brevemente, el protocolo es el siguiente: el ADNc de doble cadena se sintetiza a partir del ARN total utilizando un oligómero (dT) 24 para cebar la síntesis de ADNc de la primera cadena, seguido de la síntesis de ADNc de la segunda cadena con cebadores hexámeros aleatorios. El ADNc bicatenario se utiliza como plantilla para la transcripción *in vitro* de ARNc utilizando ribonucleótidos biotinilados. El ARNc se fragmenta químicamente de acuerdo con los protocolos descritos por Affymetrix (Santa Clara, CA, EE. UU.), y luego se hibrida durante la noche en un Human Genome Arrays.

Alternativamente, los productos proteicos expresados a partir de los ARNm se pueden analizar mediante inmunohistoquímica de muestras tumorales, inmunoensayo en fase sólida con placas de microtitulación, transferencia Western, electroforesis en gel de poliacrilamida SDS bidimensional, ELISA, citometría de flujo y otros métodos conocidos en la técnica para la detección de proteínas específicas.

Los métodos de detección incluirían el uso de anticuerpos específicos del sitio. El experto en la materia reconocerá que todas estas técnicas bien conocidas para la detección de la sobreexpresión de FGFR o la detección de variantes o mutantes de FGFR podrían ser aplicables en el presente caso.

Los niveles anormales de proteínas tales como FGFR pueden medirse usando ensayos enzimáticos estándar, por ejemplo, los ensayos descritos en el presente documento. La activación o sobreexpresión también podría detectarse en una muestra de tejido, por ejemplo, un tejido tumoral. Midiendo la actividad tirosina quinasa con un ensayo tal como el de Chemicon International. La tirosina quinasa de interés se immunoprecipitaría del lisado de muestra y se mediría su actividad.

Los métodos alternativos para la medición de la sobreexpresión o activación de FGFR, incluidas las isoformas del mismo, incluyen la medición de la densidad de microvasos. Esto se puede medir, por ejemplo, usando métodos descritos por Orre y Rogers (*Int J Cancer* (1999), 84 (2) 101-8).

Por lo tanto, todas estas técnicas también podrían usarse para identificar tumores particularmente adecuados para el tratamiento con las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la invención.

5 Las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la invención son particularmente útiles en el tratamiento de un paciente que tiene un FGFR mutado. La mutación G697C en FGFR3 se observa en el 62% de los carcinomas de células escamosas orales y provoca la activación constitutiva de la actividad quinasa. También se han identificado mutaciones activadoras de FGFR3 en casos de carcinoma de vejiga. Estas mutaciones fueron de 6 tipos con diferentes grados de prevalencia: R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q. Además, se ha encontrado que un polimorfismo Gly388Arg en FGFR4 está asociado con una mayor incidencia y agresividad del cáncer de próstata, colon, pulmón, hígado (HCC) y mama.

10 15 Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una combinación o composición farmacéutica de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de un estado patológico o afección en un paciente que ha sido examinado y se ha determinado que padece o está con riesgo de padecer una enfermedad o afección que sería susceptible de tratamiento con un compuesto que tenga actividad contra FGFR.

Las mutaciones particulares para las que se analiza un paciente incluyen mutaciones G697C, R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q en FGFR3 y el polimorfismo Gly388Arg en FGFR4.

20 Se describe un compuesto, una combinación o una composición farmacéutica para uso de acuerdo con la invención en un paciente seleccionado de una subpoblación que posee una variante del gen de FGFR (por ejemplo, mutación G697C en FGFR3 y polimorfismo Gly388Arg en FGFR4).

En vista de sus útiles propiedades farmacológicas, los inhibidores de FGFR y los inhibidores de cMet pueden formularse en diversas formas farmacéuticas para fines de administración.

25 La composición farmacéutica (por ejemplo, formulación) para uso de acuerdo con la invención comprende al menos un inhibidor de FGFR, o al menos un inhibidor de cMet o al menos un inhibidor de FGFR y un inhibidor de cMet de la invención junto con uno o más vehículos, adyuvantes, excipientes, diluyentes, rellenos, tampones, estabilizantes, conservantes, lubricantes farmacéuticamente aceptables u otros materiales bien conocidos por los expertos en la técnica y opcionalmente otros agentes terapéuticos o profilácticos.

30 35 Para preparar las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la invención, una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención, ya que el ingrediente activo se combina en una mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable, dicho vehículo puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Las composiciones farmacéuticas pueden estar en cualquier forma adecuada para administración oral, parenteral, tópica, intranasal, oftálmica, ótica, rectal, intravaginal o transdérmica. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en forma de dosificación unitaria adecuada, preferiblemente, para administración por vía oral, rectal, percutánea o por inyección parenteral. Por ejemplo, al preparar las composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o vehículos sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos.

40 45 50 55 Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso obviamente se emplean vehículos farmacéuticos sólidos. Para las composiciones parenterales, el vehículo comprenderá normalmente agua estéril, al menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, para ayudar a la solubilidad, por ejemplo. Se pueden preparar soluciones inyectables, por ejemplo, en las que el vehículo comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear vehículos líquidos apropiados, agentes de suspensión. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el vehículo comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, aditivos que no provocan un efecto nocivo significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de diversas formas, por ejemplo, como un parche transdérmico, como una mancha, como un ungüento. Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. La forma unitaria de dosificación como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, contenido cada unidad una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de dichas formas unitarias de dosificación son comprimidos (incluidos comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras,

empaques de polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y múltiples separados de los mismos.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. La forma unitaria de dosificación como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones en este documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de ingrediente activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de dichas formas unitarias de dosificación son comprimidos (incluidos comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, empaques de polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y múltiples separados de los mismos.

La combinación o composición farmacéutica para uso de acuerdo con la invención se administra en una cantidad suficiente para ejercer su actividad antitumoral.

Los expertos en la técnica podrían determinar fácilmente la cantidad eficaz del inhibidor de FGFR y del inhibidor de cMet como se describe en el presente documento. En general, se contempla que una cantidad terapéuticamente eficaz sería de 0,005 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal y, en particular, de 0,005 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis requerida como una, dos, tres, cuatro o más subdosis a intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas subdosis se pueden formular como formas de dosificación unitarias, por ejemplo, que contienen de 0,5 a 500 mg, en particular de 1 mg a 500 mg, más en particular de 10 mg a 500 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

Dependiendo del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá preferiblemente de 0,05 a 99% en peso, más preferiblemente de 0,1 a 70% en peso, incluso más preferiblemente de 0,1 a 50% en peso del inhibidor de FGFR, el inhibidor de cMet o la combinación del inhibidor de FGFR e inhibidor de cMet como se describe en este documento, y, de 1 a 99,95% en peso, más preferiblemente de 30 a 99,9% en peso, incluso más preferiblemente de 50 a 99,9% en peso de un vehículo farmacéuticamente aceptable, todos los porcentajes se basan en el peso total de la composición.

Para el tratamiento de las afecciones anteriores, las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden emplearse ventajosamente, como se indicó anteriormente, en combinación con uno o más de otros agentes medicinales, más particularmente, con otros agentes anticancerígenos o adyuvantes en terapia del cáncer.

Por lo tanto, la presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende uno o más de otros agentes medicinales y la combinación divulgada en el presente documento junto con un vehículo farmacéutico para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.

Se divulga (pero no se reivindica) el uso de una combinación de acuerdo con la invención en la fabricación de una composición farmacéutica para inhibir el crecimiento de células tumorales.

Se divulga (pero no se reivindica) un producto que contiene como primer ingrediente activo un inhibidor de FGFR de acuerdo con la invención, como segundo ingrediente activo un inhibidor de cMet, en particular un inhibidor de cMet como se define en el presente documento, más en particular el compuesto C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo o compuesto D o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y como ingrediente activo adicional uno o más agentes contra el cáncer, como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de pacientes que padecen cáncer.

El uno o más de otros agentes medicinales y la combinación de acuerdo con la presente invención se pueden administrar simultáneamente (por ejemplo, en composiciones separadas o unitarias) o secuencialmente en cualquier orden. En el último caso, los tres o más compuestos se administrarán dentro de un período y en una cantidad y manera que sea suficiente para asegurar que se logre un efecto ventajoso o sinérgico. Se apreciará que el método preferido y el orden de administración y las respectivas cantidades y regímenes de dosificación para cada componente de la combinación dependerán del otro agente medicinal y los compuestos de las combinaciones de la presente invención que se administren, su vía de administración, el tumor particular que se está tratando y el huésped particular que se está tratando. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente el método y el orden de administración óptimos y las cantidades y el régimen de dosificación utilizando métodos convencionales y en vista de la información expuesta en el presente documento.

La relación en peso de los compuestos de las combinaciones de acuerdo con la presente invención y uno o más de los otros agentes anticancerígenos cuando se administran como una combinación puede ser determinada por el experto en la técnica. Dicha proporción y la dosis exacta y la frecuencia de administración dependen de los compuestos particulares de las combinaciones de acuerdo con la invención y del otro agente o agentes anticancerígenos utilizados, la afección particular que se está tratando, la gravedad de la afección a tratar, la edad, el peso, el género, la dieta, tiempo de administración y estado físico general del paciente en particular,

el modo de administración así como otros medicamentos que el individuo pueda estar tomando, como es bien conocido por los expertos en la técnica. Además, es evidente que la cantidad diaria eficaz puede reducirse o aumentarse dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe las combinaciones de la presente invención. Una relación en peso particular para cada par del inhibidor de FGFR, el inhibidor de cMet y el otro agente anticanceroso puede variar de 1/10 a 10/1, más en particular de 1/5 a 5/1, incluso más en particular de 1/3 a 3/1.

5 El compuesto de coordinación de platino se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo, de 50 a 400 mg/m^2 , particularmente para cisplatino en un dosis de 75 mg/m^2 y de carboplatino en 300 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

10 El compuesto de taxano se administra ventajosamente en una dosis de 50 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo, de 75 a 250 mg/m^2 , particularmente para paclitaxel en una dosis de 175 a 250 mg/m^2 y de docetaxel en 75 a 150 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

15 El compuesto de camptotecina se administra ventajosamente en una dosis de 0,1 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo, de 1 a 300 mg/m^2 , particularmente para irinotecano en una dosis de 100 a 350 mg/m^2 y para topotecano en 1 a 2 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

El derivado de podofilotoxina antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 30 a 300 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo de 50 a 250 mg/m^2 , particularmente para etopósido en una dosis de 35 a 100 mg/m^2 y para tenipósido en 50 a 250 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

20 El alcaloide antitumoral de la vinca se administra ventajosamente en una dosis de 2 a 30 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, particularmente para vinblastina en una dosis de 3 a 12 mg/m^2 , para vincristina en una dosis de 1 a 2 mg/m^2 , y para vinorelbina en una dosis de 10 a 30 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

25 El derivado de nucleósido antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 200 a 2500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo de 700 a 1500 mg/m^2 , particularmente para 5-FU en dosis de 200 a 500 mg/m^2 , para gemcitabina en dosis de 800 a 1200 mg/m^2 y para capecitabina en dosis de 1000 a 2500 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

30 Los agentes alquilantes tales como la mostaza nitrogenada o la nitrosourea se administran ventajosamente en una dosis de 100 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo de 120 a 200 mg/m^2 , particularmente para ciclofosfamida en dosis de 100 a 500 mg/m^2 , para clorambucilo en dosis de 0,1 a 0,2 mg/kg , para carmustina en dosis de 150 a 200 mg/m^2 y para lomustina en una dosis de 100 a 150 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

35 El derivado de antraciclina antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 10 a 75 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo de 15 a 60 mg/m^2 , particularmente para doxorrubicina en una dosis de 40 a 75 mg/m^2 , para daunorrubicina en una dosis de 25 a 45 mg/m^2 y para idarrubicina en una dosis de 10 a 15 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

40 45 45 El agente antiestrógeno se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 100 mg diarios dependiendo del agente particular y la afección que se esté tratando. El tamoxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 5 a 50 mg, preferiblemente de 10 a 20 mg dos veces al día, continuando la terapia durante el tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El toremifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 60 mg una vez al día, continuando la terapia durante el tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El anastrozol se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 1 mg una vez al día. El droloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 20-100 mg una vez al día. El raloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 60 mg una vez al día. El exemestano se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 25 mg una vez al día.

50 Los anticuerpos se administran ventajosamente en una dosis de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, o como se conoce en la técnica, si es diferente. El trastuzumab se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, particularmente de 2 a 4 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

55 Estas dosis se pueden administrar, por ejemplo, una, dos o más por ciclo de tratamiento, que se pueden repetir, por ejemplo, cada 7, 14, 21 o 28 días.

50 Los compuestos de las combinaciones o composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden tener propiedades de diagnóstico valiosas ya que pueden usarse (no reivindicado) para detectar o identificar la formación de un complejo entre un compuesto marcado y otras moléculas, péptidos, proteínas, enzimas o receptores.

55 Los métodos de detección o identificación pueden usar compuestos que están marcados con agentes de marcaje tales como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas, etc. Ejemplos de

radioisótopos incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{3}H y ^{14}C . Las enzimas normalmente se hacen detectables mediante la conjugación de un sustrato apropiado que, a su vez, cataliza una reacción detectable. Los ejemplos de los mismos incluyen, por ejemplo, beta-galactosidasa, beta-glucosidasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa y malato deshidrogenasa, preferiblemente peroxidasa de rábano picante. Las sustancias luminosas incluyen, por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, aequorina y luciferasa.

Las muestras biológicas se pueden definir como tejido corporal o líquidos corporales. Ejemplos de líquidos corporales son líquido cefalorraquídeo, sangre, plasma, suero, orina, esputo, saliva.

Parte experimental

Durante la evaluación de los compuestos A y B descritos anteriormente como inhibidores de FGFR, al probar los compuestos en un ensayo de proliferación basado en células (ensayo de azul alamar, véase en este documento a continuación), se encontró que incluso las líneas celulares de cáncer más sensibles ($\text{IC}_{50} < 10 \text{ nM}$), tienen una subpoblación de células que no son sensibles a los compuestos. Esto se observó, por ejemplo, por una meseta en la curva de proliferación alrededor de ~ 10% del control de DMSO (el valor observado en el ensayo para DMSO se toma como 100%, y los valores observados para los tratamientos de dosis con compuesto se calculan como % de DMSO al 100%). Por ejemplo, cuando se trataron células NCI-H1581, una línea celular de cáncer de pulmón de células grandes con amplificación de FGFR1, en el ensayo de proliferación con N-(3,5-dimetoxifénil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina la curva mostró una meseta en ~ 10% del control de DMSO, lo que sugiere que hay ~ 10% de células que son insensibles al tratamiento con el compuesto.

Las células insensibles se aislaron y perfilaron con el objetivo de determinar las vías de señalización activas que actúan como impulsoras de su supervivencia y/o proliferación. Por lo tanto, las células NCI-H1581 se sembraron en placas recubiertas con colágeno I de 10 cm y se colocaron en una incubadora a 37 °C, 5% de CO₂. Las células se cultivaron en medio de crecimiento (véase más abajo), para las células parentales con o sin control de DMSO, o en medio de crecimiento complementado con una dosis alta de compuesto A (concentración final 1 μM de compuesto A en el medio, el compuesto A se añadió como una muestra diluida de una solución madre en DMSO), para las células resistentes, durante un período de tiempo prolongado. Durante el tiempo de crecimiento de las células insensibles al compuesto, se cambió dos veces por semana el medio complementado con el compuesto A [1 μM]. En el caso de las células parentales con o sin control de DMSO, cuando las células alcanzaron la confluencia cercana al 100%, se trisinizaron y se volvieron a sembrar en placa. En las placas tratadas con el compuesto se observó un crecimiento de clones resistentes. Después de aproximadamente 3 semanas desde el tratamiento inicial, las células se sacaron de la placa mediante trisnización y se pasaron a una placa nueva para expandirlas más. Las células resistentes, al igual que las células parentales, se pasaron dos veces por semana, pero el medio de las células resistentes siempre se complementó con el compuesto A [1 μM] (prueba 1).

Medio de crecimiento

RPMI-1640 (Gibco, 31870-025) 500 ml; FCS al 10% (Hyclone, SV30160.03) 57 ml; Piruvato de sodio 1 mM (Gibco, 11360) 5,7 ml; L-glutamina 2 mM (Gibco, 25030) 5,7 ml; 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de gentamicina (Gibco, 15750) 5,7 ml.

Las células resistentes se perfilaron para genes que se expresan diferencialmente en comparación con las células parentales usando tecnología de microarreglos. Se realizaron dos experimentos de microarreglos. En el primer experimento, se perfilaron células parentales y resistentes con el fin de definir genes y vías diferentes entre las dos poblaciones y comprender las vías que impulsan la resistencia al compuesto A. En el segundo experimento de microarreglos, se perfilaron los cambios en la expresión génica a lo largo del tiempo después del tratamiento con el compuesto A. Para ese propósito, las células NCI-H1581 se trataron con DMSO o 1 μM de compuesto A o se dejaron sin tratar durante el transcurso de tiempo de 1 día, 1 semana y 2 semanas.

En ambos análisis de microarreglos, se identificó que el oncogén Met estaba sobreexpresado de una manera dependiente del tiempo en las células resistentes.

Este experimento también se realizó con el compuesto B y también para el compuesto B, se identificó que el oncogén Met estaba sobreexpresado de una manera dependiente del tiempo en las células resistentes.

La observación de que el gen Met estaba sobreexpresado impulsó experimentos para comprobar si el receptor de Met está sobreexpresado a nivel de proteína y está activado y si la vía de señalización impulsada por Met actúa como un impulsor de la resistencia. Por lo tanto, las células parentales y resistentes se perfilaron en matrices de fosfoRTK (receptor de tirosina quinasa) y también para la expresión y fosforilación de proteínas totales de Met. También se analizó la sensibilidad de las células a inhibidores de Met seleccionados (compuestos C y D) en el ensayo de proliferación de AlamarBlue. Se encontró que la expresión de la proteína Met estaba sobreexpresada y que la proteína Met estaba fosforilada solo en las células resistentes, y no en las células parentales, lo que sugiere que la vía de señalización de Met está activada en las células resistentes. Además de esta observación, el tratamiento de las células resistentes con un inhibidor de Met potente y

selectivo, el compuesto C, subreguló significativamente la fosforilación de Met. Las células parentales NCI-H1581 tenían niveles detectables muy bajos de proteína Met y ninguna señal para la fosforilación de la proteína Met (véase la Figura 1). Además, en los ensayos de proliferación de AlamarBlue de las células parentales y resistentes tratadas con inhibidores de Met los compuestos C y D, los inhibidores de Met inhibieron fuertemente la proliferación de las células resistentes NCI-H1581, pero no de las células parentales NCI-H1581 (vease la Tabla a continuación; se muestran los resultados de experimentos repetidos).

	IC ₅₀ (M)		IC ₅₀ (M)
Células parentales tratadas con compuesto D	> 1,0E-5	Células parentales tratadas con compuesto C	> 3,0E-5 (igual para todos los experimentos)
Células parentales + DMSO tratadas con compuesto D	> 3,0E-5		
Células resistentes tratadas con compuesto D	3,41E-7 4,44E-7	Células resistentes tratadas con compuesto C	1,36E-7 2,44E-8 6,97E-8 2,18E-7 1,68E-7
	IC ₅₀ (M)		
Células parentales tratadas con crizotinib	6,91E-6 4,95E-6		
Células resistentes tratadas con crizotinib	1,98E-7 1,65E-7		

A partir de estos datos se puede concluir que las células NCI-H1581 resistentes a los inhibidores de FGFR ensayados tienen el receptor de Met activado y son dependientes de la ruta de señalización de Met para su proliferación y supervivencia.

El hallazgo de la activación de la señalización de Met como impulsor de la resistencia a los inhibidores de FGFR probados en NCI-H1581 apoya el tratamiento de combinación con un inhibidor de FGFR y Met para superar la aparición de la resistencia a un inhibidor de FGFR en las células NCI-H1581. Se realizó un experimento en el que los dos agentes (inhibidor de FGFR: compuesto A 1 μ M e inhibidor de Met: compuesto D 1 μ M) se combinaron desde el principio. También hubo tratamientos de las células con agentes únicos (compuesto A 1 μ M o compuesto D 1 μ M) o DMSO. La proliferación de las células fue seguida utilizando la máquina IncuCyte, midiendo la confluencia de las células a lo largo del tiempo. En este experimento que se realizó de forma análoga a la descrita anteriormente para el ensayo 1, se observó que el tratamiento con el compuesto D inhibidor de Met, así como el tratamiento con DMSO, no afectaron la proliferación de las células NCI-H1581. El tratamiento de las células con el inhibidor de FGFR (compuesto A 1 μ M) bloqueó inicialmente la proliferación, pero después de aproximadamente tres semanas se observó un crecimiento emergente de células insensibles al compuesto, lo que coincide con el hallazgo indicado anteriormente de que después de aproximadamente tres semanas de inhibición continua de la vía del FGFR con el compuesto A, la subpoblación de células resistentes insensibles en las células NCI-H1581, ganó capacidad para crecer. Es importante destacar que el tratamiento combinado del inhibidor de FGFR (compuesto A 1 μ M) y el inhibidor de Met (compuesto D 1 μ M) evitó por completo la aparición de resistencia. Vease la Figura 2.

Estudio *in vivo*

Se inocularon ratones atípicos desnudos con células NCI-H1581 resistentes (células 10⁶/200 μ l con Matrigel, relación 1:1, en la región inguinal de los ratones).

Todos los ratones (84) se colocaron en grupos (4) y se trataron desde el día de la inyección celular.

Los ratones se trataron por vía oral (po), volumen normal (250 μ l/25 g) una vez al día y esto durante 37 días (QDx37). La medición del volumen tumoral se realizó el día 0, 5, 12, 15, 20, 23, 27, 30, 33, 37.

El día 37 se sacrificaron todos los animales.

La siguiente tabla ilustra el diseño del estudio:

Grupo		Tratamiento	Ruta	Esquema	Número de animales
1	Blanco (HP-b-CD al 10%)	no			12

2	Compuesto A	25 mg/kg	po	Una vez al día (QD) durante 37 días, después de la aleatorización	24
3	Compuesto A Compuesto D	25 mg/kg AM 50 mg/kg AM	po	Una vez al día (QD) durante 37 días, después de la aleatorización	24
4	Compuesto A Compuesto D	25 mg/kg AM 50 mg/kg PM	po	Una vez al día (QD) durante 37 días, después de la aleatorización	24

Los resultados de este estudio *in vivo* se muestran en la Figura 3.

Todos los agentes de prueba fueron bien tolerados durante todo el estudio. Sin embargo, en los grupos de combinación se observó una mayor pérdida de peso corporal.

- 5 En este estudio, se observó que el tratamiento con el compuesto A no tuvo efecto sobre el crecimiento tumoral, ya que estas células se hicieron previamente resistentes a este tratamiento. Curiosamente, ambos tratamientos combinados demostraron afectar el crecimiento del tumor. Además, el efecto antiproliferativo más fuerte se observó cuando los dos agentes se dosificaron simultáneamente. El hecho de que este modelo fuera sensible a una combinación de agentes dirigidos e insensible al tratamiento del compuesto A solo, sugiere que ambas vías juegan un papel significativo en el crecimiento de estos tumores.
- 10

Ensayo con AlamarBlue

Las células se sembraron en 180 µl de medio a densidades celulares optimizadas en placas negras de 96 pocillos con fondo plano transparente. Los pocillos exteriores se llenaron con 180 µl de medio. Las células se incubaron durante 24 horas a 37 °C y 5% de CO₂.

- 15 Se prepararon diluciones de compuestos al día siguiente en una placa de 96 pocillos con fondo redondo (Corning No. 3365). Se preparó una dilución 50x del compuesto en medio, 4 µl de reserva del compuesto en 196 µl de medio en una placa de 96 pocillos (Corning No. 3585). Se colocaron placas de compuesto/medio en un agitador durante 10 minutos y luego se añadieron a las células 20 µl del compuesto en medio (dilución 10x). Las células se incubaron a 37 °C y 5% de CO₂ durante 4 días hasta la lectura de AlamarBlue®.

- 20 Preparación de AlamarBlue®:

Material:

Comprimidos de resazurina (100 comprimidos) (PROLABO)

Ferrocianuro de potasio (Sigma)

Ferricianuro de potasio (Sigma)

- 25 KH₂PO₄ (Sigma)

K₂HPO₄ (Sigma)

Tampón de fosfato de potasio (PPB) 1 litro

KH₂PO₄ 20 mM: 2,72 g

K₂HPO₄ 80 mM: 13,86 g

- 30 pH 7,4 (con unas pocas gotas de KOH 5M)

Llenar hasta 500 ml con MilliQ

Llevar la solución a pH 7,4 y ajustar a 1 litro de volumen final.

Reactivos PPB-A

1 comprimido de resazurina por ml de PPB (1 comprimido + 800 µl de PPB)

Reactivos PPB-B: ferricianuro de potasio 30 mM en PPB

0,987 g de ferricianuro de potasio + 100 ml de PPB

Filtrar en forma estéril sobre un filtro de 0,22 µm y almacenar a 4 °C

Reactivos PPB-C: ferrocianuro de potasio 30 mM en PPB

5 1,266 g de ferrocianuro de potasio + 100 ml de PPB

Filtrar en forma estéril sobre un filtro de 0,22 µm y almacenar a 4 °C

Mezcla lista para usar de con AlamarBlue

1 ml de PPB-A alternativo + 1 ml de PPB-B + 1 ml de PPB-C

añadir 57 ml de PPB

10 Filtrar en forma estéril sobre un filtro de 0,22 µm y almacenar a 4 °C.

Después de 4 días de incubación con el compuesto: Agregar 40 µl de AlamarBlue® mezcla lista para usar a cada pocillo. Incubar las placas a 37 °C y 5% de CO₂. Medir las placas después de 4 o 6 horas de incubación (depende de la línea celular). Agitar las placas y medir RFU a una excitación de: 544 nm y una emisión de: 590 nm

15 El ensayo con AlamarBlue® incorpora un indicador de crecimiento fluorométrico/colorimétrico basado en la detección de actividad metabólica. Específicamente, el sistema incorpora un indicador de oxidación-reducción (REDOX) que emite fluorescencia y cambia de color en respuesta a la reducción química del medio de crecimiento resultante del crecimiento celular.

20 Inhibición del crecimiento de células H1581^{MET(+)} mediante la combinación de inhibidores de FGFR y MET. Se cultivaron en placa células H1581 parentales, no clasificadas, y células H1581^{Met(+)} clasificadas, subpoblación de células H1581 que tienen una alta expresión de Met, a razón de 75.000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos. Un día después, las células se trataron con el compuesto A (0,1 mM) o la combinación del compuesto A (0,1 mM) y el compuesto D (1 mM), o DMSO que sirvió como vehículo y se evaluó la proliferación celular midiendo la confluencia celular durante un período de cuatro días utilizando imágenes de células vivas con IncuCyte. Las imágenes se adquirieron cada dos horas. La proliferación de células se presentó como la media del porcentaje de confluencia ± DE (n = 2).

25 El crecimiento de las células H1581 fue igualmente inhibido por el tratamiento con el compuesto A o la combinación del compuesto A y el compuesto D, lo que sugiere que la inhibición del crecimiento de las células H1581 fue impulsada por el inhibidor de FGFR. H1581^{MET(+)} mostró una sensibilidad menor al compuesto A, y su proliferación fue fuertemente inhibida por la combinación del compuesto A y el compuesto D, lo que indica que en esta población celular la quinasa MET juega un papel significativo en el crecimiento y la proliferación. Estos hallazgos sugieren que la subpoblación de H1581^{MET(+)} está mediando la resistencia intrínseca a los inhibidores de FGFR en células H1581.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación de un primer compuesto seleccionado de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo; y un segundo compuesto que es un inhibidor de cMet para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.
- 5 2. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el primer compuesto es N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo.
- 10 3. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 2 en la que el primer compuesto es a base de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina.
- 15 4. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el primer compuesto es N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo.
- 5 5. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en la que el primer compuesto es a base de N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina.
- 20 6. La combinación para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el inhibidor de cMet se selecciona de 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo.
- 25 7. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 6 en la que el inhibidor de cMet es 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo.
8. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 7 en la que el inhibidor de cMet es a base de 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina.
- 30 9. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 6 en la que el inhibidor de cMet es 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo.
10. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 9 en la que el inhibidor de cMet es a base de 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina.
- 35 11. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una combinación como se define en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer al primer compuesto de la combinación.
12. La combinación para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o la composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el cáncer es cáncer de pulmón, vejiga, mama, gástrico o hepatocelular.
- 40 13. Un inhibidor de cMet para uso para retrasar la aparición de resistencia de un tumor o un cáncer a un inhibidor de FGFR.
14. Un inhibidor de cMet para uso de acuerdo con la reivindicación 13 en el que el inhibidor de FGFR se selecciona de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y N-(2-fluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirido[2,3-b]pirazin-6-amina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo.
- 45 15. Un inhibidor de cMet para uso de acuerdo con la reivindicación 14 en el que el inhibidor de FGFR es N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo.
- 50 16. Un inhibidor de cMet para uso de acuerdo con la reivindicación 15 en el que el inhibidor de FGFR es base de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina.
17. Un inhibidor de cMet para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16 en el que el inhibidor de cMet se selecciona de 6-[difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-

il]metil}quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, y 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo.

Figura 1

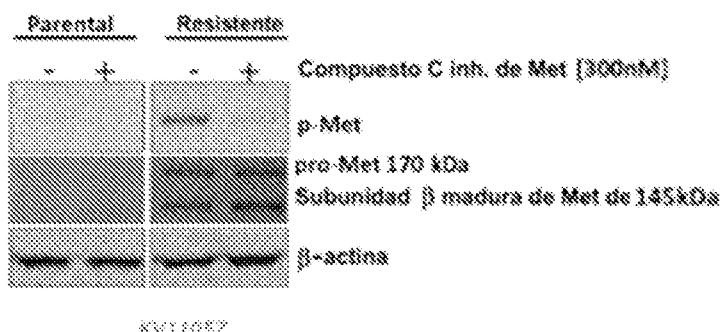


Figura 2

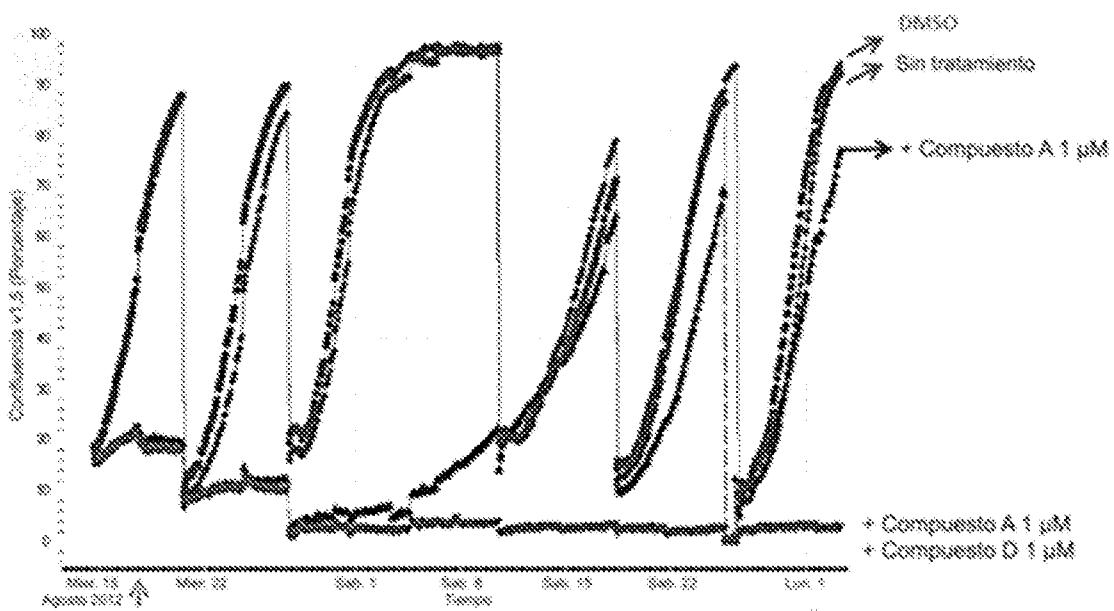


Figura 3

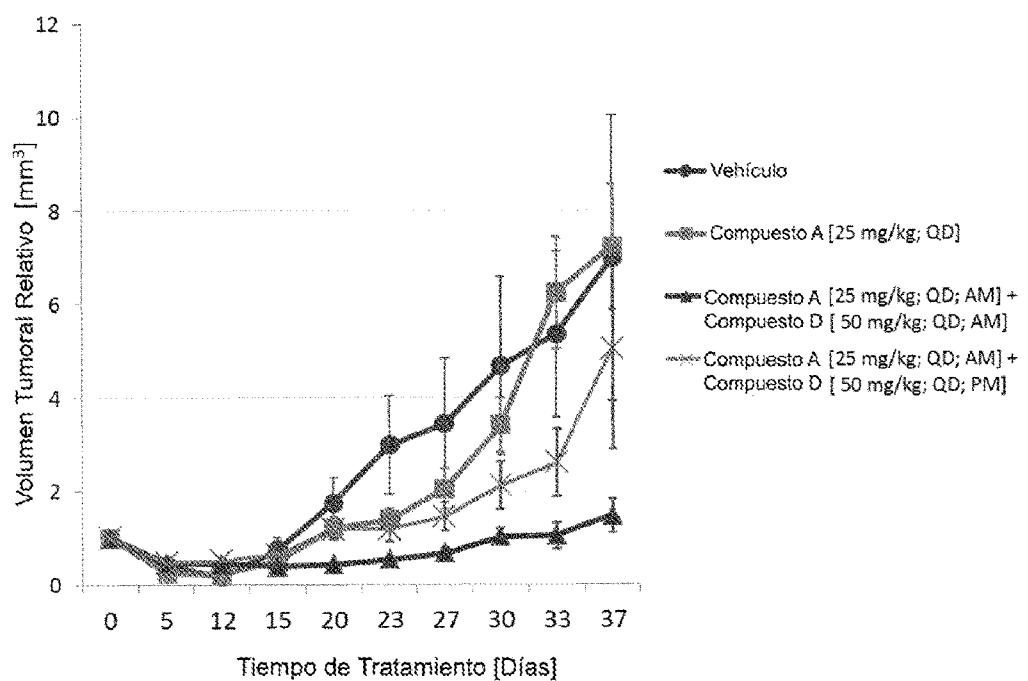


Figura 4

