

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 966 469**

(51) Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/405 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.08.2017 PCT/US2017/048183**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **01.03.2018 WO18039324**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.08.2017 E 17761701 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2023 EP 3503923**

(54) Título: **Terapias combinadas para el tratamiento del carcinoma hepatocelular**

(30) Prioridad:

23.08.2016 US 201662378455 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.04.2024

(73) Titular/es:

EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (100.0%)
6-10, Koishikawa 4-chome Bunkyo-ku
Tokyo 112-8088, JP

(72) Inventor/es:

**SELVARAJ, ANAND y
SMITH, PETER**

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 966 469 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

Terapias combinadas para el tratamiento del carcinoma hepatocelular

5 ANTECEDENTES

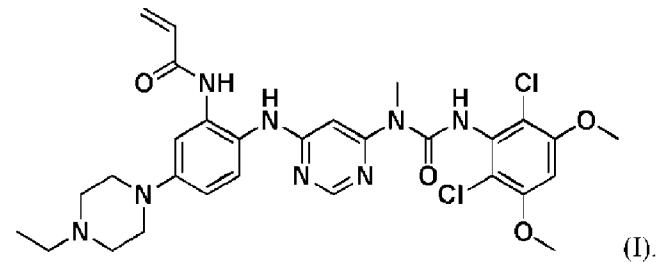
El cáncer de hígado es la segunda causa de mortalidad por cualquier tipo de cáncer, y la 16^a causa de muerte más común en todo el mundo (Llovet JM, et al., 2015 "Advances in targeted therapies for hepatocellular carcinoma in the genomic era". Nat. Rev. Clin Oncology 12, 408-424). El carcinoma hepatocelular (HCC, por sus siglas en inglés) representa hasta el 90 % de todos los cánceres primarios de hígado (Llovet JM et al. 2015).

Se han implicado diversas vías de señalización en el HCC, incluyendo los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF, por sus siglas en inglés) (particularmente FGF19/FGFR4), el factor de crecimiento epidérmico (EGF, por sus siglas en inglés), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, por sus siglas en inglés), ERK/MAPK y la diana mecanicista de rapamicina (mTOR), entre otros (Llovet JM et al., 2015). FGF19 se sobre-expresa en

15 aproximadamente un tercio de todos los HCC, y se supone que esta sobre-expresión hiperactiva el FGFR4 y su vía de señalización aguas abajo, lo que conduce a un crecimiento potenciado del tumor (Xie MH et al., 1999 "FGF-19, a novel fibroblast growth factor with Unique Specificity for FGFR4." Cytokine. Oct. 1999;11(10):729-35; Sawey, et al., 2011 "Identification of a therapeutic strategy targeting amplified FGF19 in liver cancer by Oncogenomic screening."

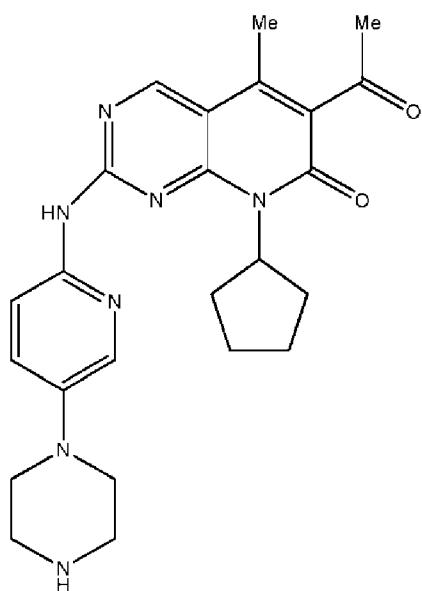
20 Cancer Cell. 8 marzo de 2011; 19(3):347-58.). De manera similar a la vía FGF19/FGFR4, la activación de la vía CDK4/6 también está implicada en la patogénesis del HCC (Rivadeneira et al., 2010 "Proliferative Suppression by CDK4/6 Inhibition: Complex Function of the Retinoblastoma Pathway in Liver Tissue and Hepatoma Cells." Gastroenterology 138:1920-1930).

25 Compuesto 1 es un inhibidor selectivo del FGFR4 de molécula pequeña, biodisponible por vía oral, con la estructura mostrada en la Fórmula I y el nombre químico *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida:



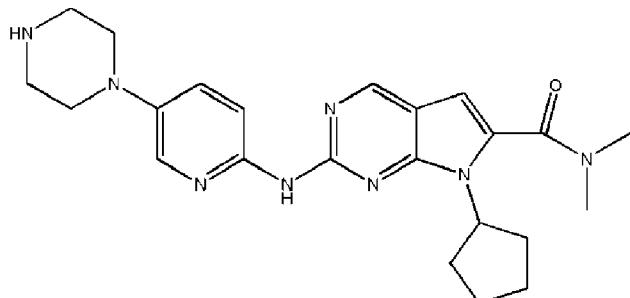
30 Compuesto 1 y su síntesis se informan en la Publicación de Solicitud Internacional PCT Nº WO2015/057938, publicada el 23 de abril de 2015.

35 Palbociclib (6-acetyl-8-ciclopentil-5-metil-2-[(5-(piperazin-1-il)piridin-2-il)amino]pirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-ona) es un inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (CDK, por sus siglas en inglés) 4 y 6 aprobado por la FDA. Palbociclib tiene la siguiente estructura:



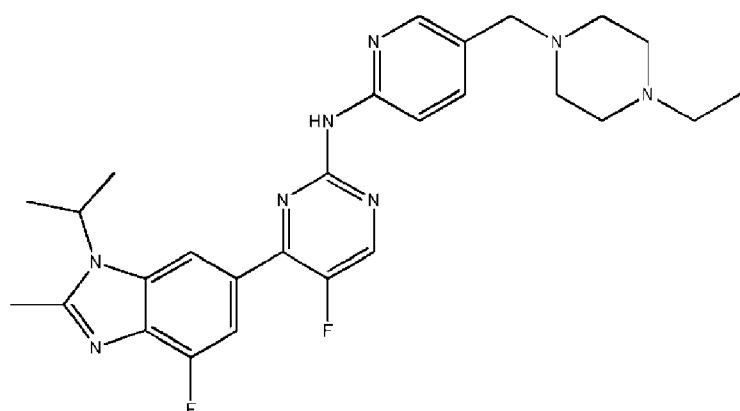
Véanse las patentes de EE.UU. N°s 6.936.612; 7.208.489 y 7.456.168.

- 5 Ribociclib (dimetilamida del ácido 7-ciclopentil-2-(5-piperazin-1-il-piridin-2-ilamino)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico) es un inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (CDK) 4 y 6 aprobado por la FDA. Ribociclib tiene la siguiente estructura:



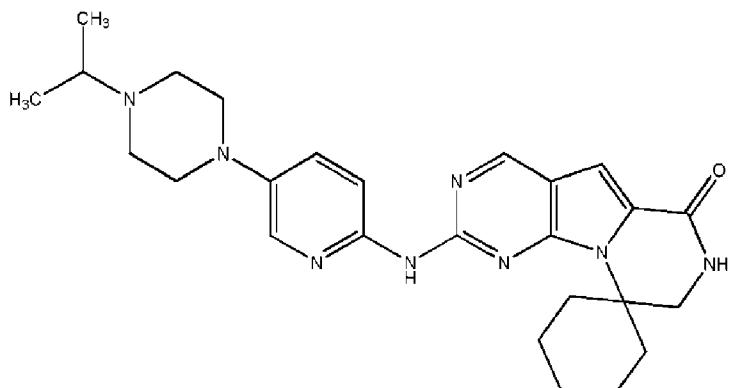
- 10 Véase la Pub. de Sol. de Patente de EE.UU. N° US20120115878, Publicación PCT N° WO2007140222, Publicación PCT N° WO2012061156; Publicación PCT N° WO2011130232; Publicación PCT N° WO2011101417.

- 15 Abemaciclib es un inhibidor de CDK 4/6 con el nombre *N*-(5-((4-etilpiperazin-1-il)metil)piridin-2-il)-5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)pirimidin-2-amina. Abemaciclib tiene la siguiente estructura:



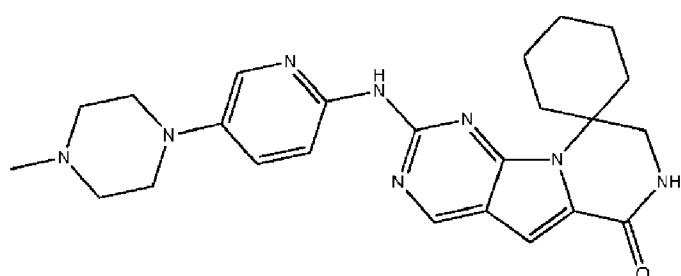
- 20 Véase O'Leary, et al., "Treating Cancer with Selective CDK 4/6 Inhibitors" Nat. Rev. (Publicada En Línea el 31 de marzo De 2016); Publicación PCT N° WO2016110224, Pub. de Sol. de Patente de Estados Unidos N° 20100160340; y Publicación PCT N° WO2016025650.

5 G1T-38 (al que también se alude como GZ-38-1 o G1T38-1) es un inhibidor reseñado de CDK 4/6. G1T-38, que es estudiado por G1 Therapeutics, Inc., de Research Triangle Park, Carolina del Norte, se reseña en el Resumen nº 2824 de la Reunión Anual de la AACR de 2016, celebrada del 16 al 20 de abril en Nueva Orleans, Louisiana, titulada "G1T38, A Novel, Oral, Potent and Selective CDK 4/6 Inhibitor for the Treatment of RB Competent Tumors," de J. Sorrentino, J. Bisi, P. Roberts y J. Strum. G1T-38 tiene el nombre químico 2'-((5-(4-isopropilpiperazin-1-il)piridin-2-il)amino)-7',8'-dihidro-6'H-espiro[ciclohexano1,9'-pirazino[1',2':1,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin]-6'-ona, y la estructura expuesta a continuación:



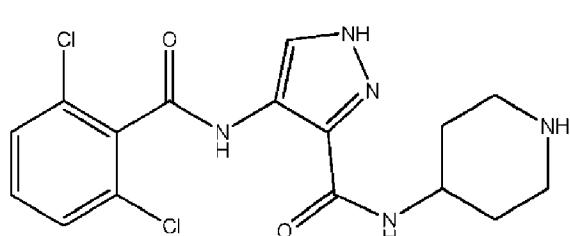
10 Véase Bisi, et al., "Preclinical development of G1T38: A novel, potent and selective inhibitor of cyclin dependent kinases 4/6 for use as an oral antineoplastic in patients with CDK4/6 sensitive tumors," Oncotarget, Advance Publications 2017 (15 de marzo de 2017).

15 G1T-28 es un inhibidor de CDK 4/6 con el nombre 2'-((5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-2-il)amino)-7',8'-dihidro-6'H-espiro[ciclohexano1,9'-pirazino[1',2':1,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin]-6'-ona. G1T-28 tiene la siguiente estructura:



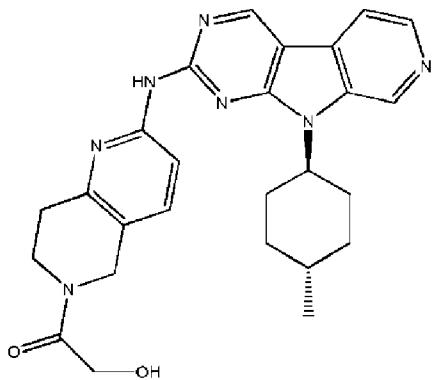
20 Véase, por ejemplo, Bisi, et al., "Preclinical Characterization of G1T28: A Novel CDK4/6 Inhibitor for Reduction of Chemotherapy-induced Myelosuppression" Mol. Cancer Ther.; 15(5) 783-93, mayo de 2016; Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. Nº US20160220569; Publicaciones de Solicitudes de Patente Internacional PCT Nºs WO2014144326; WO2014144847; y WO2016040848.

25 AT-7519 es un inhibidor de CDK 4/6 con el nombre N-(4-piperidinil)-4-(2,6-diclorobenzoylamino)-1H-pirazol-3-carboxamida. AT-7519 tiene la siguiente estructura:



30 Véase, por ejemplo, las Publicaciones de Solicitudes de Patente Internacional PCT Nºs WO 2005012256; WO 2006077424; WO 2006077426; WO 2008001101; WO 2006077425; WO 2006077428; WO 2008007113; WO 2008007122; y WO 2008009954.

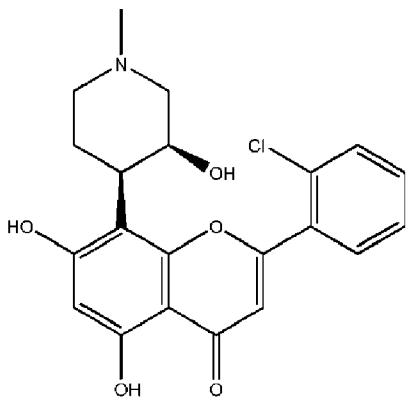
FLX-925 (también conocido como AMG-925) es un inhibidor de CDK 4/6 con el nombre 2-hidroxi-1-[2-[9-(trans-4-metilciclohexil)-9H-pirido[4',3':4,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il]amino]-7,8-dihidro-1,6-naftiridin-6(5H)-il]etanona. FLX-925 tiene la siguiente estructura:



5

Véase, por ejemplo, la Pub. de Solicitud de Patente de EE.UU. Nº 2014163052 y la Publicación de Solicitud de Patente Internacional PCT Nº WO 2012129344.

10 Alvocidib es un inhibidor de CDK 4/6 con el nombre 2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-((3*S*,4*R*)-3-hidroxi-1-metilpiperidin-4-il)-4*H*-cromen-4-ona. Alvocidib tiene la siguiente estructura:



15 Véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. Nºs US2011189175 y US2011189175; las Publicaciones de Solicitudes de Patente Internacional PCT Nºs WO 2000044362; WO 2001041747; WO 2001053293; WO 2001053294; WO 2002022133; WO 2007010946.,

20 A pesar de los avances en el tratamiento del HCC, es necesario proporcionar un tratamiento mejorado para el HCC.
A pesar de los avances en el tratamiento del IHCC, es necesario proporcionar un tratamiento mejorado para el IHCC.

SUMARIO

25 La presente invención proporciona una terapia combinada, que comprende una cantidad eficaz de Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y una cantidad eficaz de un inhibidor de CDK4/6 o una cantidad farmacéuticamente eficaz del mismo para uso en la amenaza de carcinoma hepatocelular en un paciente que lo necesita.

30 La invención se expone en el conjunto de reivindicaciones adjunto.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

35 La FIG. 1A a la FIG. 1C muestran los efectos antitumorales de Compuesto 1 y de inhibidor de CDK 4/6 ribociclib en el modelo de xenoinjerto JHH7 de carcinoma hepatocelular. Tanto Compuesto 1 como ribociclib, cada uno como una base libre, se administraron por vía oral (PO) una vez al día (QD) durante 8 días. Los datos representan la media ± EMT para el volumen del tumor.

40 La FIG. 1A muestra Ribociclib como agente único (****P ≤ 0,0001 en comparación con los controles de vehículo utilizando ANOVA de dos vías, seguido de la prueba post hoc de Sidak).

40

La FIG. 1B muestra dos niveles de dosis de Ribociclib en combinación con 300 mg/kg de Compuesto 1 (****P ≤ 0,0001 en comparación con 300 mg/kg del grupo de agente único de Compuesto 1 utilizando ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Sidak).

5 La FIG. 1C muestra dos niveles de dosis de Ribociclib en combinación con 500 mg/kg de Compuesto 1 (****P ≤ 0,0001 para 500 mg/kg de agente único del Compuesto 1 en comparación con los controles del vehículo y ***P ≤ 0,0001 para combinaciones en comparación con 500 mg/kg del grupo de agente único de Compuesto 1 utilizando ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Sidak).

10 La FIG. 2A a la FIG. 2C muestran los efectos antitumorales de Compuesto 1 y de inhibidor de CDK 4/6 palbociclib en el modelo de xenoinjerto JHH de carcinoma hepatocelular. Tanto Compuesto 1 como Palbociclib, cada uno como una base libre, se administraron por vía oral (PO) una vez al día (QD) durante 8 días. Los datos representan la media ± EMT para el Volumen del Tumor.

15 La FIG. 2A muestra palbociclib como agente único (*P ≤ 0,05 en comparación con los controles de vehículo utilizando ANOVA de dos vías, seguido de la prueba post hoc de Sidak).

20 La FIG. 2B muestra dos niveles de dosis de palbociclib en combinación con 300 mg/kg de Compuesto 1 (**P ≤ 0,01 en comparación con control vehículo y ****P ≤ 0,0001 en comparación con 300 mg/kg del grupo de agente único de Compuesto 1 utilizando ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Sidak).

25 La FIG. 2C muestra dos niveles de dosis de palbociclib en combinación con 500 mg/kg de Compuesto 1 (****P ≤ 0,0001 para 500 mg/kg de agente único del Compuesto 1 en comparación con los controles del vehículo y ***P ≤ 0,0001 para combinaciones en comparación con 500 mg/kg del grupo de agente único del Compuesto 1 utilizando ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Sidak).

30 La FIG. 3A y la FIG. 3B muestran los efectos antitumorales de Compuesto 1 y de inhibidor de CDK 4/6 palbociclib en el modelo de xenoinjerto LIX066 derivado de paciente de carcinoma hepatocelular. Tanto Compuesto 1 como Palbociclib, cada uno se administraron por vía oral (PO) una vez al día (QD) durante 8 días. Los datos representan la media ± EMT para el Volumen del Tumor.

35 La FIG. 3A muestra Compuesto 1 300 mg/kg como agente único o en combinación con 100 mg/kg de palbociclib (**P ≤ 0,001 para palbociclib 100 mg/kg como agente único en comparación con controles de vehículo, ****P ≤ 0,0001 para 300 mg/kg del grupo de agente único de Compuesto 1 en comparación con los controles del vehículo y ****P ≤ 0,0001 para combinaciones en comparación con 300 mg/kg del grupo de agente único del Compuesto 1 utilizando ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Sidak).

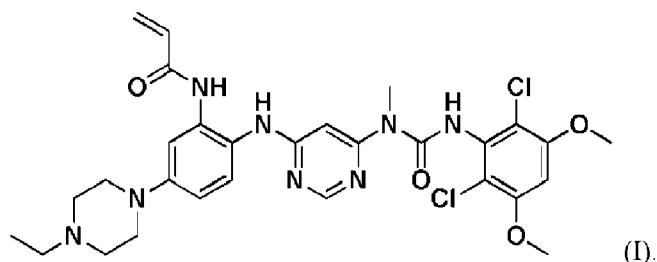
40 La FIG. muestra el Compuesto 1, 500 mg/kg como agente único o en combinación con 100 mg/kg de palbociclib (**P ≤ 0,001 para palbociclib 100 mg/kg como agente único en comparación con controles de vehículo, ****P ≤ 0,0001 para 500 mg/kg del grupo de agente único del Compuesto 1 en comparación con los controles del vehículo y ****P ≤ 0,0001 para combinaciones en comparación con 500 mg/kg del grupo de agente único del Compuesto 1 utilizando ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Sidak).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE REALIZACIONES

45 En esta memoria se proporcionan terapias combinadas útiles en el tratamiento del carcinoma hepatocelular (HCC) y del colangiocarcinoma intrahepático (IHCC). En algunas realizaciones, las terapias combinadas incluyen la administración de Compuesto 1 en combinación con un inhibidor de CDK 4/6. En determinadas realizaciones, el inhibidor de CDK 4/6 es Palbociclib y sales farmacéuticamente aceptables del mismo. En otras realizaciones, el inhibidor de CDK 4/6 es ribociclib. En aún otras realizaciones, el inhibidor de CDK 4/6 es abemaciclib y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

55 En esta memoria se proporcionan combinaciones de agentes terapéuticos para uso en el tratamiento del carcinoma hepatocelular. Tal como se utiliza en esta memoria, una "combinación de agentes terapéuticos" y expresiones similares se refieren a una combinación de dos tipos de agentes terapéuticos: (1) Compuesto 1 y/o sales farmacológicamente activas del mismo y (2) un inhibidor de CDK 4/6, y/o sales farmacológicamente activas del mismo. "Combinación", tal como se utiliza en esta memoria, (incluyendo la expresión "combinación de agentes terapéuticos") se refiere a estos tipos de agentes terapéuticos co-formulados en una forma de dosificación única, formulados y co-administrados individualmente, o formulados individualmente y administrados secuencialmente.

60 Compuesto 1 es un inhibidor selectivo del FGFR4 de molécula pequeña biodisponible por vía oral con la estructura que se muestra en la Fórmula I:



- Compuesto 1 y su síntesis se informan en la Publicación de Solicitud Internacional PCT Nº WO2015/057938, publicada el 23 de abril de 2015. Cuando se utiliza en combinaciones como se describen en esta memoria, Compuesto 1 se puede administrar a pacientes en cualquiera de las siguientes cantidades de dosificación diaria: 150 mg, 300 mg, 600 mg, 1000 mg, 1500 mg o 2000 mg. La cantidad de dosificación diaria puede ser de 50 mg a 3000 mg, de 50 mg a 600 mg o de 200 mg a 400 mg. La dosis diaria puede ser parte de un régimen cíclico que dure 14 días o 21 días. La cantidad de dosificación diaria se puede administrar como una dosis única o como dosis múltiples.
- Inhibidores de CDK 4/6 adecuados para su uso en esta memoria pueden incluir, por ejemplo, ribociclib, palbociclib y abemaciclib, y sus sales e hidratos farmacéuticamente aceptables.
- La administración de una combinación de agentes terapéuticos comprende la administración de los agentes terapéuticos individuales en combinación en una única formulación o forma de dosificación unitaria, la administración de los agentes terapéuticos individuales de la combinación de forma concurrente pero por separado, o la administración de los agentes individuales de la combinación secuencialmente por cualquier vía adecuada. La dosificación de los agentes terapéuticos individuales de la combinación puede requerir una administración más frecuente de uno de los agentes en comparación con el otro agente de la combinación. Por lo tanto, para permitir una dosificación adecuada, los productos farmacéuticos envasados pueden contener una o más formas de dosificación que contengan la combinación de agentes, y una o más formas de dosificación que contengan una de las combinaciones de agentes, pero no el(s) otro(s) agente(s) de la combinación.
- Las combinaciones como se reseña en esta memoria pueden incluir realizaciones en las que uno o más de Compuesto 1 y un inhibidor de CDK 4/6 se administran como una sal farmacéuticamente aceptable o como una base libre. No existe ningún requisito de que ambos compuestos se administren como la misma sal farmacéuticamente aceptable, pero pueden serlo. En realizaciones particulares, las combinaciones comprenden una forma de base libre de Compuesto 1 y una forma de base libre de inhibidor de CDK 4/6. En otras realizaciones, las combinaciones pueden comprender una forma HCl de Compuesto 1 y un inhibidor de CDK 4/6. En algunas realizaciones, el inhibidor de CDK 4/6 puede ser una base libre. En algunas realizaciones, el inhibidor de CDK 4/6 puede ser una sal farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, el inhibidor de CDK 4/6 puede ser un hidrato.
- "Sal farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a sales por adición de ácidos o sales por adición de bases de los compuestos de la presente divulgación. Una sal farmacéuticamente aceptable es cualquier sal que retiene la actividad del compuesto precursor y no imparte efecto indebidamente perjudicial o indeseable alguno en un sujeto al que se administra y en el contexto en el que se administra. Sales farmacéuticamente aceptables incluyen complejos metálicos y sales de ácidos tanto inorgánicos como carboxílicos. Sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales metálicas tales como sales de aluminio, calcio, hierro, magnesio, manganeso y complejas. Además, sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales ácidas tales como acética, aspártica, alquilsulfónica, arilsulfónica, axetilo, bencenosulfónica, benzoica, bicarbónica, bisulfúrica, bitartárica, butírica, edetato de calcio, camsílica, carbónica, clorobenzoica, cítrica, edética, edisílica, estolica, esila, esílica, fórmica, fumárica, glucéptica, glucónica, glutámica, glicólica, glicolilarsanílica, hexámica, hexilresorcinoica, hidrabámica, bromhídrica, clorhídrica, yodhídrica, hidroxinaftoica, isetiónica, láctica, lactobiónica, maleica, málica, malónica, mandélica, metanosulfónica, metilnítrica, metilsulfúrica, múcica, mucónica, napsílica, nítrica, oxálica, p-nitrometanosulfónica, pamoica, pantoténica, fosfórica, monohidrógeno fosfórica, dihidrógeno fosfórica, ftálica, poligalactourónica, propiónica, salicílica, esteárica, succínica, sulfámica, sulfanílica, sulfónica, sulfúrica, tánica, tartárica, teóclica, toluenosulfónica.
- Realizaciones pueden ser sales hidrocloruro. Sales farmacéuticamente aceptables pueden derivarse de aminoácidos que incluyen cisteína. Los expertos en la técnica conocen métodos para producir compuestos como sales (véase, p.ej., Stahl et al., *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, Wiley-VCH; Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2002; Berge y col., *J. Pharm. Sci.* 66: 1, 1977).
- Una "cantidad eficaz" de una combinación de agentes terapéuticos (por ejemplo, compuesto 1 y un inhibidor de CDK 4/6) es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico observable en comparación con HCC o IHCC que se ha dejado sin tratar en un sujeto o paciente.

Pueden combinarse agentes activos como se reseña en esta memoria con un soporte farmacéuticamente aceptable para proporcionar formulaciones farmacéuticas de los mismos. La elección particular del soporte y la formulación dependerá de la vía de administración particular a la que se destina la composición.

- 5 "Soporte farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un soporte, adyuvante o excipiente atóxico que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con el que se formula. Soportes, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden utilizarse en las composiciones de esta invención incluyen ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, hidrógeno-fosfato disódico, hidrógeno-fosfato de potasio, cloruro sódico, sales de zinc, sílice 10 coloidal, trisilicato de magnesio, polivinil pirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliacrilatos, ceras, polietilenglicol y grasa de lana.

15 Las composiciones de la presente invención pueden ser adecuadas para administración por vía parenteral, oral, inhalatoria, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o de depósito implantado, etc. En algunas realizaciones, la formulación comprende ingredientes procedentes de fuentes naturales o no naturales. En algunas realizaciones, la formulación o el soporte se pueden proporcionar en forma estéril. Ejemplos de un soporte estéril incluyen agua libre de endotoxinas o agua apírogena.

20 El término "parenteral", tal como se utiliza en esta memoria, incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intra-articular, intra-sinovial, intra-esternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. En realizaciones particulares, los compuestos se administran por vía intravenosa, oral, subcutánea o por vía intramuscular. Formas inyectables estériles de las composiciones de esta invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones se pueden formular de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica 25 utilizando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable atóxico. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentra el agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un disolvente o medio de suspensión.

30 Para este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluyendo mono- o di-glicéridos sintéticos. Los ácidos grasos y sus derivados glicéridos son útiles en la preparación de inyectables, al igual que los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como el aceite de oliva o el aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Estas soluciones o suspensiones oleosas también pueden contener un diluyente o dispersante alcoholílico de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa o agentes dispersantes similares que se utilizan 35 comúnmente en la formulación de formas de dosificación farmacéuticamente aceptables, incluyendo emulsiones y suspensiones. Otros tensioactivos comúnmente utilizados, tales como Tweens, Spans y otros agentes emulsionantes que se utilizan comúnmente en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas, líquidas u otras formas de dosificación farmacéuticamente aceptables, también pueden utilizarse para los fines de formulación.

40 Para la administración oral, se puede proporcionar un compuesto o sal en una forma de dosificación oral aceptable, incluyendo cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de los comprimidos para uso oral, los soportes comúnmente utilizados incluyen lactosa y almidón de maíz. También se pueden añadir agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el ingrediente 45 activo se puede combinar con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también se pueden añadir determinados agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes. Además, también se pueden añadir conservantes. Ejemplos adecuados de conservantes farmacéuticamente aceptables incluyen diversos agentes antibacterianos y antifúngicos tales como disolventes, por ejemplo etanol, propilenglicol, alcohol bencílico, clorobutanol, sales de amonio cuaternario y parabenos (tales como metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, etc.).

50 "Liberación inmediata" pretende incluir una liberación convencional, en la que la liberación del fármaco comienza inmediatamente después de la administración. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "liberación inmediata" incluye formas de dosificación que permiten que el fármaco se disuelva en el contenido gastrointestinal, sin intención de retrasar o prolongar la disolución o absorción del fármaco. El objetivo es que el fármaco sea liberado rápidamente 55 después de la administración, por ejemplo, que sea posible liberar al menos el 80 % del fármaco en el espacio de aproximadamente 30 minutos después del comienzo de la disolución en un test de disolución.

60 "Liberación sostenida" o "liberación prolongada" incluye formas de dosificación cuyas características de liberación del fármaco de curso temporal y/o ubicación se eligen para lograr objetivos terapéuticos o de conveniencia que no ofrecen las formas de dosificación convencionales, tales como una solución o una forma de dosificación de liberación inmediata.

65 La expresión "estado estacionario" significa que se ha alcanzado un nivel plasmático para un agente activo o combinación de agentes activos determinado y que se mantiene con dosis posteriores del o de los agentes activos a un nivel que es igual o superior al nivel terapéutico eficaz mínimo y está por debajo del nivel plasmático tóxico mínimo para un o unos agentes activos determinados.

- La expresión "formulación única", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un único soporte o vehículo formulado para suministrar cantidades eficaces de ambos agentes terapéuticos a un paciente. El vehículo único está diseñado para suministrar una cantidad eficaz de cada uno de los agentes junto con cualquier vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. El vehículo puede ser un comprimido, una cápsula, una pastilla o un parche.
- 5 La expresión "dosis unitaria" se utiliza en esta memoria para dar a entender la administración simultánea de ambos agentes juntos, en una forma de dosificación, al paciente que está siendo tratado. La dosis unitaria puede ser una formulación única. En determinadas realizaciones, la dosis unitaria puede incluir uno o más vehículos de modo que cada uno de los vehículos incluya una cantidad eficaz de al menos uno de los agentes (Compuesto 1 o un inhibidor de CDK 4/6) junto con soportes y excipientes farmacéuticamente aceptables. Alternativamente, la dosis unitaria es uno o más comprimidos, cápsulas, píldoras o parches administrados al paciente al mismo tiempo
- 10 La expresión "intervalo de dosis", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un límite superior e inferior de una variación aceptable de la cantidad de agente especificado. Típicamente, se puede administrar una dosis de un agente en cualquier cantidad dentro del intervalo especificado a pacientes que se someten a tratamiento.
- 15 El término "tratar" se utiliza en esta memoria con el significado de mitigar, reducir o aliviar al menos un síntoma de una enfermedad en un sujeto. Por ejemplo, en relación con el HCC, el término "tratar" puede significar detener, retrasar la aparición (es decir, el período previo a la manifestación clínica de una enfermedad o síntoma de una enfermedad) y/o reducir el riesgo de desarrollar o empeorar un síntoma de una enfermedad. El término "proteger" se utiliza en esta memoria para dar a entender prevenir retrasar o tratar, o todo, según corresponda, el desarrollo o la continuación o el agravamiento de los síntomas de la enfermedad en un sujeto.
- 20 25 El término "sujeto" o "paciente" pretende incluir animales que son capaces de sufrir o padecer HCC o IHCC. Ejemplos de sujetos o pacientes incluyen mamíferos, p. ej., seres humanos, perros, vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, gatos, ratones, conejos, ratas y animales no humanos transgénicos. En determinadas realizaciones, el sujeto es un ser humano, p. ej., un ser humano que padece, está en riesgo de padecer o es potencialmente capaz de padecer HCC o IHCC.
- 30 35 El término "aproximadamente" o la expresión "alrededor de" significa habitualmente dentro del 20 %, más preferiblemente dentro del 10 % y lo más preferiblemente todavía dentro del 5 % de un valor o intervalo dado. Alternativamente, especialmente en sistemas biológicos, el término "aproximadamente" significa aproximadamente dentro de un logaritmo (es decir, un orden de magnitud) preferiblemente dentro de un factor de dos de un valor dado.
- 40 45 El uso de los términos "un" y "una" y "el" y "la" y referencias similares en el contexto de describir la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) debe interpretarse para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otro modo en esta memoria o se contradiga claramente por el contexto. Las expresiones "que comprende", "que tiene", "que incluye" y "que contiene" deben interpretarse como expresiones abiertas (es decir, que significan "que incluye") a menos que se indique lo contrario. La mención de intervalos de valores en esta memoria está destinada simplemente a servir como un método abreviado para hacer referencia individualmente a cada uno de los valores separados que se encuentren dentro del intervalo, a menos que se indique lo contrario en esta memoria, y cada uno de los valores separados se incorpora en la memoria descriptiva como si se indicara individualmente en esta memoria.
- 50 55 La expresión "efecto potenciado", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a la acción de dos agentes que administrados juntos proporcionan un resultado mayor o mejorado que cuando los agentes individuales se administran solos sin la co-administración del otro agente. La administración de los agentes juntos puede proporcionar un efecto potenciado cuando se administran simultánea o secuencialmente. La administración secuencial de los agentes incluye administraciones separadas por varios segundos, minutos, horas o días. La administración de los agentes juntos puede proporcionar un efecto potenciado cuando los agentes se administran como parte de una formulación única o cuando se administran en formulaciones separadas. Ejemplos de agentes que pueden administrarse juntos incluyen Compuesto 1 e inhibidores de CDK4/6. Ejemplos adicionales de agentes que pueden administrarse juntos incluyen i) Compuesto 1 y ribociclib; ii) Compuesto 1 y palbociclib; y iii) Compuesto 1 y abemaciclib.
- 60 65 El resultado mayor o mejorado del efecto potenciado puede incluir, por ejemplo, uno o más de los siguientes: i) calidad mejorada de la respuesta tumoral, ii) velocidad mejorada de la respuesta tumoral y iii) una respuesta tumoral que es más que una suma de las respuestas que de otro modo podrían lograrse si los agentes individuales se hubieran administrado solos. Ejemplos de calidad mejorada de la respuesta tumoral pueden incluir regresión completa (CR) en lugar de regresión parcial (PR), enfermedad estable (SD) o enfermedad progresiva (PD). Ejemplos de calidad mejorada de la respuesta tumoral pueden incluir regresión parcial (PR) en lugar de enfermedad estable (SD) o enfermedad progresiva (PD). Otro ejemplo de calidad mejorada de la respuesta tumoral pueden incluir enfermedad estable (SD) en lugar de enfermedad progresiva (PD). Se pueden realizar estudios controlados para determinar si la administración de los agentes juntos dio como resultado un efecto potenciado de una respuesta tumoral más que la suma de las respuestas correspondientes logradas cuando los agentes individuales se administran respectivamente solos, por ejemplo, en ratones, ratas, perros, monos u otros animales. Estudios controlados de este tipo pueden

evaluar, por ejemplo, el volumen del tumor resultante o el estado metastásico o de otro tipo. Asimismo, se pueden utilizar estudios controlados para determinar un efecto potenciado que resulte en una respuesta tumoral más rápida.

5 Además, el tratamiento se puede proporcionar a un sujeto que tiene carcinoma hepatocelular con estado alterado de FGFR4 y/o FGF19 (factor de crecimiento de fibroblastos 19).

10 Alternativamente, el tratamiento puede incluir o realizarse junto con el análisis del estado de FGFR4 y/o FGF19 en una muestra biológica que contiene células de dicho carcinoma hepatocelular, y si dicho carcinoma hepatocelular exhibe una alteración de FGFR4 y/o FGF19, tratar a un sujeto con una cantidad eficaz para el tratamiento de una combinación terapéutica como se describe en esta memoria.

Combinaciones de uso

15 En esta memoria se proporciona una terapia combinada útil para el tratamiento de HCC o IHCC. Como se comenta a continuación, las combinaciones proporcionadas en esta memoria pueden tener un cierto número de ventajas.

20 Una ventaja de la combinación descrita en esta memoria es el efecto potenciado inesperado de una combinación de Compuesto 1 y un inhibidor de CDK 4/6 en el tratamiento de la inhibición del crecimiento del tumor y el tratamiento de HCC o IHCC.

25 En algunas realizaciones, en esta memoria se proporciona una única formulación farmacéutica que contiene una combinación de Compuesto 1 y un inhibidor de CDK 4/6. Una ventaja proporcionada en esta memoria es el efecto potenciado que resulta en el tratamiento del HCC en comparación con el tratamiento con una dosis única de cualquiera de los fármacos. Cuando los fármacos se proporcionan en una dosis unitaria única o en una formulación única, la "carga de píldoras" en un paciente que padece HCC no aumenta.

30 Como se especificó arriba, en un aspecto, en esta memoria se proporciona una combinación de fármacos para uso en el tratamiento, la prevención, la detención, el retraso de la aparición y/o la reducción del riesgo de desarrollar o revertir el HCC en un mamífero, que comprende administrar a dicho mamífero una terapia de combinación, que comprende una cantidad eficaz de Compuesto 1 y una cantidad eficaz de un inhibidor de CDK 4/6.

35 Se puede determinar que el sujeto a tratar (p. ej., paciente) no responde o es resistente a una o más terapias de HCC, p. ej., Compuesto 1, o que el individuo a tratar responde a la terapia con Compuesto 1, pero la terapia mejoró con la administración de un inhibidor de CDK 4/6. Por ejemplo, al paciente se le administra Compuesto 1 (p. ej., de 50 mg a 600 mg por día, de 200 mg a 400 mg por día, o 300 mg por día durante algún período de tiempo, p. ej., más de un día, más de dos días, más de tres días, más de una semana, durante 21 días, más de un mes, etc. Despues de ese tiempo, se podría administrar a ese paciente un inhibidor de CDK 4/6 en combinación con Compuesto 1.

40 Cantidades de inhibidor de CDK 4/6 pueden variar dependiendo del inhibidor de CDK 4/6 que se utilice. Por ejemplo, se puede administrar palbociclib, por ejemplo en una dosis de 75, 100 o 125 mg/día; ribociclib se puede administrar, por ejemplo, en una dosis de 200, 400 o 600 mg/día. Típicamente, se administra una dosis por vía oral en forma de una sola cápsula durante 21 días consecutivos, seguido de un período sin tratamiento de 7 días.

45 La dosis diaria puede ser parte de un régimen cíclico que dure de 14 a 21 días o más. La cantidad de dosificación diaria se puede administrar como una dosis única o como dosis múltiples.

Un experto en la técnica apreciará que la dosis eficaz del fármaco activo puede ser menor que la cantidad real administrada. Como tal, en esta memoria se proporcionan dosis necesarias para lograr una dosis terapéutica.

50 En diversas realizaciones, en esta memoria se proporcionan métodos para tratar el HCC mediante la administración de una cantidad eficaz de Compuesto 1 y un inhibidor de CDK 4/6 a un individuo que tiene HCC. La cantidad de la combinación de agentes es eficaz para tratar el HCC. En una realización, la combinación de agentes tiene un efecto potenciado. En una realización, aunque uno o más de los agentes administrados solos en una dosis particular pueden ser eficaces, cuando se administran en combinación, a la misma dosis de cada agente, el tratamiento es más eficaz.

55 Por ejemplo, en una realización una combinación de Compuesto 1 y palbociclib es más eficaz que la administración de cualquiera de los agentes solos. En otra realización, una combinación de Compuesto 1 y ribociclib es más eficaz que la administración de cualquiera de los agentes solos.

Dosificaciones

60 La dosis óptima de la combinación de agentes para uso en el tratamiento del HCC se puede determinar empíricamente para cada uno de los individuos utilizando métodos conocidos y dependerá de una diversidad de factores, incluyendo la actividad de los agentes; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del individuo; el momento y la vía de administración; y otros medicamentos que el individuo esté tomando. Las dosis óptimas se pueden establecer utilizando ensayos y procedimientos de rutina que son bien conocidos en la técnica.

Para la terapia combinada de la presente invención, la dosis diaria de Compuesto 1 está en el intervalo de 50 mg a 600 mg. Por tanto, la dosis diaria de Compuesto 1 puede ser de hasta 600 mg, o la dosis diaria de Compuesto 1 puede ser de hasta 400 mg, hasta 300 mg, 200 mg a 400 mg, o puede ser 300 mg.

- 5 El momento de la administración se puede elegir de manera que ambos fármacos se administren simultáneamente, por separado o secuencialmente, ya sea por la mañana o por la noche. Alternativamente, un fármaco se puede administrar por la mañana y el otro por la noche. Ambos fármacos se pueden administrar en forma de un solo comprimido, cápsula, píldora, parche o gelatina, una vez al día, ya sea por la mañana o por la noche.
- 10 La cantidad de combinación de agentes que se puede combinar con los materiales de soporte para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del individuo tratado y del modo particular de administración. Las formas de dosificación unitaria que contienen la combinación de agentes como se describe en esta memoria contendrán las cantidades de cada uno de los agentes de la combinación que típicamente se administran cuando los agentes se administran solos.

15 **Formulaciones Farmacéuticas y Vías de Administración**

En esta memoria se proporcionan formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación de agentes para el tratamiento del HCC como se establece en el conjunto de reivindicaciones adjunto. Las formulaciones farmacéuticas 20 pueden comprender adicionalmente un soporte o excipiente, estabilizador, agente aromatizante y/o agente colorante.

Puede administrarse una combinación de agentes utilizando una diversidad de vías de administración conocidas por los expertos en la técnica. Vías de administración incluyen la administración oral. Por ejemplo, una formulación farmacéutica que comprende una combinación de agentes se puede tomar por vía oral en forma de líquido, jarabe, 25 comprimido, cápsula, polvo, espolvoreador, pastilla masticable o disco soluble. Alternativamente, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar por vía intravenosa o transdérmica. Los expertos en la técnica conocen vías de administración adicionales (véase, p. ej., Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro A.R., Ed., 20^a edición, Mack Publishing Co., Easton, Pa.).

30 El Compuesto 1 y el inhibidor de CDK 4/6 se pueden formular como una pasta, gelatina o suspensión. Por ejemplo, los fármacos se pueden disolver, atrapar o suspender en forma de partículas de fármaco, partículas microencapsuladas o partículas de fármaco-polímero en una solución gelatinosa o semisólida. Una ventaja de una formulación de jalea oral es que es más fácil administrar los fármacos a pacientes que tienen dificultad para tragar comprimidos, cápsulas o píldoras. Ambos agentes se pueden mezclar completamente y suspender en un medio apropiado para formar una pasta o un gel. Opcionalmente, se pueden mezclar agentes adicionales para proporcionar 35 sabor durante la administración oral. La mantequilla de cacahuete o el alginato, aromatizados con frambuesa y un edulcorante son ejemplos de los muchos agentes enmascaradores del sabor adecuados. Alternativamente, la pasta o jalea también se puede formular con aglutinantes o excipientes adecuados conocidos en la técnica para administración tópica.

40 En la técnica se conocen métodos para preparar formulaciones de liberación sostenida en forma de comprimidos, cápsulas o píldoras. Por ejemplo, la formulación de liberación sostenida se prepara recubriendo el ingrediente activo del fármaco con un polímero, preferiblemente un polímero insoluble en agua. Por ejemplo, un polímero insoluble en agua utilizado en el campo farmacéutico como un agente de revestimiento de liberación sostenida, agente de 45 revestimiento entérico o agente de revestimiento gástrico. El polímero insoluble en agua puede incluir, por ejemplo, etilcelulosa, goma laca purificada, goma laca blanca, copolímero de metacrilato de aminoalquilo RS, ftalato de hidroxipropilmelcelulosa, acetato-succinato de hidroxipropilmelcelulosa, carboximetiletil-celulosa, acetato-ftalato de celulosa, copolímero de ácido metacrílico L, copolímero de ácido metacrílico LD, copolímero de ácido metacrílico S, copolímero de metacrilato de aminoalquilo E o dietilaminoacetato de polivinil acetal.

50 El tipo, grado de sustitución y peso molecular de los polímeros insolubles en agua pueden depender de la solubilidad del ingrediente activo en agua o un alcohol o del nivel de liberación sostenida deseado. Los polímeros insolubles en agua se pueden utilizar solos o en combinación. Puede incorporarse, además, un aceite hidrogenado, ácido esteárico o cetanol como agente auxiliar de revestimiento, y un triglicérido de cadena media, triacetina, citrato de trietilo o cetanol 55 como plastificante.

Además, la formulación de liberación sostenida puede ser un comprimido o un gránulo de tipo matriz. El ingrediente activo se puede recubrir con hasta 3 tipos diferentes de polímeros. Estos tres tipos diferentes de polímeros pueden incluir: 1) un polímero insoluble en agua, tal como etilcelulosa; 2) un polímero gelificante independiente del pH, tal como hidroxipropilmelcelulosa; y 3) un polímero gelificante dependiente del pH, tal como alginato de sodio. Estos tres tipos diferentes de polímeros se pueden utilizar juntos para atenuar la velocidad de liberación de los fármacos.

Formas de Dosificación: Propiedades de Liberación

65 Las formulaciones de liberación sostenida pueden lograr un cierto grado de efecto sostenido. Sin embargo, la exposición y/o la biodisponibilidad del ingrediente activo puede variar en base a una diversidad de factores, tales como,

por ejemplo, la ventana de absorción, los soportes o excipientes utilizados en la formulación, el modo de suministro de la formulación y/o el tiempo de tránsito del ingrediente activo a través del tracto gastrointestinal del paciente.

- 5 Una terapia combinada puede contener al menos una porción de liberación sostenida para realizar una función de liberación sostenida y una porción de liberación inmediata para realizar una función de liberación inmediata. Cuando la terapia combinada es en una forma de dosificación única, puede ser en forma de comprimidos formados a partir de una mezcla de gránulos de liberación sostenida que constituyen una porción de liberación sostenida y gránulos de liberación inmediata que constituyen una porción de liberación inmediata, obteniéndose una preparación en cápsula llenando una cápsula con gránulos de liberación sostenida y gránulos de liberación inmediata, o comprimidos recubiertos a presión en los que se forma una capa exterior que constituye una porción de liberación inmediata sobre un núcleo interno que constituye una porción de liberación sostenida. Sin embargo, no hay limitación para las realizaciones anteriores.
- 10 Además, no existen limitaciones particulares sobre el estado de contención de cada uno de los fármacos en la composición o en una porción de liberación inmediata o una porción de liberación sostenida; el Compuesto 1 puede dispersarse uniformemente en la composición, porción de liberación inmediata o porción de liberación sostenida, o puede estar contenido en solo una parte de la composición, porción de liberación inmediata o porción de liberación sostenida, o puede estar contenido de manera que haya un gradiente de concentración.
- 15 20 Una porción de liberación sostenida en la composición de acuerdo con la presente invención puede contener al menos una sustancia polimérica no dependiente del pH o una sustancia polimérica dependiente del pH para controlar la liberación del fármaco.
- 25 30 Una sustancia polimérica no dependiente del pH utilizada en esta memoria puede comprender una sustancia polimérica cuyo estado de carga apenas cambia bajo las condiciones de pH que se encuentran generalmente en el tracto gastrointestinal, específicamente de pH 1 a pH 8. Esto significa, por ejemplo, una sustancia polimérica que no tiene grupos funcionales cuyo estado de carga cambia en función del pH, tal como grupos funcionales de carácter básico tales como grupos amino, o grupos funcionales de carácter ácido, tales como grupos de ácido carboxílico. Obsérvese que la sustancia polimérica no dependiente del pH puede incluirse para dar a la composición de acuerdo con la presente invención una función de liberación sostenida, pero también puede incluirse para otro propósito. Además, la sustancia polimérica no dependiente del pH utilizada en la presente invención puede ser insoluble en agua, o puede hincharse en agua o disolverse en agua para formar un gel.
- 35 40 Ejemplos de sustancias poliméricas no dependientes del pH insolubles en agua incluyen éteres de celulosa, ésteres de celulosa y copolímeros de ácido metacrílico-ácido acrílico (nombre comercial Eudragit, fabricado por Rohm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Alemania). Ejemplos incluyen éteres alquílicos de celulosa tales como etilcelulosa (nombre comercial Ethocel, fabricado por Dow Chemical Company, EE.UU.), etilmetylcelulosa, etilpropilcelulosa o isopropilcelulosa y butilcelulosa, éteres aralquilicos de celulosa tales como bencilcelulosa, éteres cianoalquílicos de celulosa tales como cianoetilcelulosa, ésteres de ácido orgánico de celulosa, tales como acetato-butirato de celulosa, acetato de celulosa, propionato de celulosa o butirato de celulosa y acetato-propionato de celulosa, copolímeros de acrilato de etilo-metacrilato de metilo (nombre comercial Eudragit NE, fabricado por Rohm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Alemania) y copolímero de metacrilato de aminoalquilo RS (nombres comerciales Eudragit RL, Eudragit RS). No existen limitaciones particulares sobre el diámetro medio de partícula de un polímero insoluble en agua utilizado en la presente invención, pero habitualmente cuanto menor es este diámetro medio de partícula mejor será el rendimiento, siendo el diámetro medio de partícula preferiblemente de 0,1 a 100 µm, más preferiblemente de 1 a 50 µm, de manera particularmente preferida de 3 a 15 µm, lo más preferiblemente de 5 a 15 µm. Además, ejemplos de sustancias poliméricas no dependientes del pH solubles o que se hinchan en agua incluyen polí(óxido de etileno) (nombre comercial Polyox, fabricado por Dow Chemical Company, peso molecular de 100.000 a 7.000.000), hidroxipropilcelulosa poco sustituida (nombre comercial L-HPC, fabricado por Shin-Etsu Chemical, Japón), hidroxipropilcelulosa (nombre comercial HPC, fabricado por Nippon Soda, Co., Ltd, Japón), hidroxipropilmetylcelulosa (nombres comerciales Metolose 60SH, 65SH, 90SH, fabricado por Shin-Etsu Chemical, Japón) y metilcelulosa (nombre comercial Metolose SM, fabricado por Shin-Etsu Chemical, Japón).
- 45 50 La composición puede contener una única sustancia polimérica no dependiente del pH, o puede contener una pluralidad de sustancias poliméricas no dependientes del pH. La sustancia polimérica no dependiente del pH, si se utiliza en las realizaciones descritas en esta memoria, puede ser una sustancia polimérica insoluble en agua, más preferiblemente etilcelulosa, un copolímero de acrilato de etilo-metacrilato de metilo (nombre comercial Eudragit NE), o un copolímero de metacrilato de aminoalquilo RS (nombre comercial Eudragit RL, Eudragit RS). Es particularmente preferible al menos uno de etilcelulosa y un copolímero de metacrilato de aminoalquilo RS. La más preferible es etilcelulosa. No existen limitaciones particulares sobre la cantidad de sustancia polimérica no dependiente del pH contenida en la composición; esta cantidad puede ajustarse según sea apropiado de acuerdo con el propósito, tal como controlar la liberación sostenida del fármaco.
- 55 60 Una sustancia polimérica dependiente del pH que se puede utilizar en realizaciones reseñadas en esta memoria puede comprender una sustancia polimérica cuyo estado de carga cambia bajo las condiciones de pH que se encuentran generalmente en el tracto gastrointestinal, específicamente de pH 1 a pH 8. Esto significa, por ejemplo, una sustancia

- polimérica que tiene grupos funcionales cuyo estado de carga cambia en función del pH, tal como grupos funcionales de carácter básico tales como grupos amino, o grupos funcionales de carácter ácido, tales como grupos de ácido carboxílico. Los grupos funcionales dependientes del pH de la sustancia polimérica dependiente del pH son preferiblemente grupos funcionales de carácter ácido, teniendo la sustancia polimérica dependiente del pH lo más preferiblemente grupos ácido carboxílico.
- Una sustancia polimérica dependiente del pH utilizada en la presente invención puede ser insoluble en agua, o puede hincharse en agua o disolverse en agua para formar un gel. Ejemplos de sustancias poliméricas dependientes del pH utilizadas en la presente invención incluyen, pero no se limitan a sustancias poliméricas entéricas. Ejemplos de sustancias poliméricas entéricas incluyen copolímeros de ácido metacrílico-metacrilato de metilo (Eudragit L100, Eudragit S 100, fabricados por Rohm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Alemania), copolímeros de ácido metacrílico-acrilato de etilo (Eudragit L100-55, Eudragit L30D-55, fabricados de Rohm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Alemania), ftalato de hidroxipropilmetylcelulosa (HP-55, HP-50, fabricado por Shin-Etsu Chemical, Japón), acetato-succinato de hidroxipropilmetylcelulosa (AQOAT, fabricado por Shin-Etsu Chemical, Japón), carboximetiletilcelulosa (CMEC, fabricada por Freund Corporation, Japón) y acetato-ftalato de celulosa.
- Ejemplos de sustancias poliméricas dependientes del pH que se hinchan en agua o se disuelven en agua para formar un gel incluyen ácido algínico, pectina, polímero de carboxivinilo y carboximetiletilcelulosa. En la presente invención, una sola sustancia polimérica dependiente del pH puede estar contenida en la composición, o puede estar contenida una pluralidad de sustancias poliméricas dependientes del pH. La sustancia polimérica dependiente del pH utilizada en la presente invención es preferiblemente una sustancia polimérica entérica, más preferiblemente un copolímero de ácido metacrílico-acrilato de etilo, un copolímero de ácido metacrílico-metacrilato de metilo, ftalato de hidroxipropil metiletilcelulosa o acetato-succinato de hidroxipropil metiletilcelulosa, de manera particularmente preferida un copolímero de ácido metacrílico-acrilato de etilo.
- Cuando se utiliza una sustancia polimérica dependiente del pH en el procedimiento de fabricación de una composición de acuerdo con la presente invención, se puede utilizar un producto disponible comercialmente de tipo polvo o tipo granular, o un tipo de suspensión en el que la sustancia polimérica dependiente del pH se ha dispersado en un disolvente de antemano tal cual, o un producto disponible comercialmente de este tipo se puede utilizar dispersado en agua o en un disolvente orgánico. Cuanto menor sea el diámetro de partícula de la sustancia polimérica dependiente del pH, mejor será el rendimiento, siendo la sustancia polimérica dependiente del pH preferiblemente del tipo de polvo. En el caso de un copolímero de ácido metacrílico-acrilato de etilo, un ejemplo es Eudragit L100-55. No existen limitaciones particulares sobre el diámetro medio de partícula de una sustancia polimérica dependiente del pH utilizada en la presente invención, pero el diámetro medio de partícula es preferiblemente de 0,05 a 100 µm, más preferiblemente de 0,05 a 70 µm, lo más preferiblemente de 0,05 a 50 µm. Además, no existen limitaciones particulares sobre la cantidad de sustancia polimérica dependiente del pH, por ejemplo, en el caso de una sustancia polimérica entérica, la cantidad es generalmente de 0,1 a 90 partes en peso, preferiblemente de 1 a 70 partes en peso, más preferiblemente de 5 a 60 partes en peso, de manera particularmente preferida de 10 a 50 partes en peso, basado en 100 partes en peso de la composición.
- Una terapia combinada de acuerdo con las realizaciones descritas en esta memoria puede contener, además, cualquiera de diversos aditivos, tales como cualquiera de diversos soportes farmacológicamente aceptables tales como diluyentes, lubricantes, aglutinantes y desintegrantes, así como conservantes, colorantes, edulcorantes, plastificantes, agentes de recubrimiento de película según sea necesario. Ejemplos de diluyentes incluyen lactosa, manitol, fosfato cálcico dibásico, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa cristalina, anhídrido silícico ligero, silicato de aluminio sintético, metasilicato de aluminato de magnesio. Ejemplos de lubricantes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco y estearil fumarato de sodio. Ejemplos de aglutinantes incluyen hidroxipropilelcelulosa, metilelcelulosa, carboximetilelcelulosa sódica, hidroxipropilmetylcelulosa y polivinilpirrolidona. Ejemplos de desintegrantes incluyen carboximetilelcelulosa, carboximetilelcelulosa cálcica, croscarmelosa sódica, carboximetil almidón sódico e hidroxipropilelcelulosa poco sustituida. Ejemplos de conservantes incluyen ésteres del ácido paraoxibenzoico, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenétlico, ácido deshidroacético y ácido súrbico. Ejemplos preferibles de colorantes incluyen pigmentos lacas insolubles en agua, pigmentos naturales (p. ej., betacaroteno, clorofila, óxido férrico rojo), óxido férrico amarillo, óxido férrico rojo, óxido férrico negro. Ejemplos preferibles de edulcorantes incluyen sacarina sódica, glicirrizado dipotásico, aspartamo y stevia. Ejemplos de plastificantes incluyen ésteres de ácidos grasos de glicerol, citrato de trietilo, propileneglicol y polietileneglicol. Ejemplos de agentes de recubrimiento de película incluyen hidroxipropilmetylcelulosa, hidroxipropilelcelulosa.
- ### Métodos de Fabricación
- Para fabricar realizaciones como se reseña en esta memoria se puede utilizar un solo método convencional, o una combinación de métodos convencionales. Por ejemplo, cuando se fabrican gránulos que contienen fármaco como una porción de liberación sostenida o una porción de liberación inmediata, la granulación es la operación principal, pero esto puede combinarse con otras operaciones, tales como mezclar, secar, tamizar y clasificar. Como método de granulación se pueden utilizar, por ejemplo, un método de granulación en húmedo en el que se añaden un aglutinante y un disolvente al polvo y se lleva a cabo la granulación, un método de granulación en seco en el que se comprime el

polvo y se lleva a cabo la granulación, un método de granulación fundida en el que se puede utilizar un aglutinante que se funde al calentarse y se lleva a cabo calentamiento y granulación.

Además, de acuerdo con el método de granulación, se puede utilizar un método operativo tal como un método de granulación por mezcladura utilizando un mezclador planetario, un mezclador de tornillo, un método de granulación por mezcladura de alta velocidad utilizando un mezclador Henschel, un mezclador Super, un método de granulación por extrusión utilizando un granulador cilíndrico, un granulador rotatorio, un granulador de extrusión de tornillo, un granulador de tipo peletizadora, un método de granulación en húmedo de alto cizallamiento, un método de granulación en lecho fluidizado, un método de granulación por compresión, un método de granulación por trituración o un método de granulación por pulverización. Después de la granulación, se puede realizar el secado usando una secadora, un lecho fluidizado, craqueo y tamizado para obtener los gránulos o gránulos finos para su uso. Además, se puede utilizar un disolvente de granulación cuando se prepara la composición de acuerdo con la presente invención. No existen limitaciones particulares sobre un disolvente de granulación de este tipo, el cual puede ser agua o cualquiera de diversos disolventes orgánicos, por ejemplo, agua, un alcohol inferior, tal como metanol o etanol, una cetona, tal como acetona o metil etil cetona, cloruro de metileno o una mezcla de los mismos.

Para los gránulos de liberación sostenida contenidos en realizaciones, se mezclan al menos un fármaco y al menos uno seleccionado de sustancias poliméricas no dependientes del pH y sustancias poliméricas dependientes del pH, se añaden un diluyente y un aglutinante según sea necesario, y se lleva a cabo la granulación para obtener materia granular. La materia granular obtenida se seca mediante un secador de bandejas, un secador de lecho fluidizado y se realiza un tamizado mediante un molino o un oscilador, con lo que se pueden obtener los gránulos de liberación sostenida. Alternativamente, como método de fabricación de gránulos de liberación sostenida en la presente invención, es posible añadir al menos un fármaco, al menos uno seleccionado de sustancias poliméricas no dependientes del pH y sustancias poliméricas dependientes del pH y, según sea necesario, un diluyente y un aglutinante utilizando un compactador en seco, tal como un compactador de rodillos o una máquina para hacer tabletas, y llevar a cabo la granulación mientras se mezcla, y luego llevar a cabo la granulación rompiendo hasta un tamaño adecuado. La materia granular preparada utilizando un granulador de este tipo puede usarse tal cual como gránulos o gránulos finos de acuerdo con la presente invención, o puede craquearse adicionalmente utilizando un molino eléctrico, un granulador de rodillos, un molino de velocidad de rotor y tamizado para obtener gránulos de liberación sostenida. Obsérvese que los gránulos de liberación inmediata también se pueden fabricar como los gránulos de liberación sostenida.

Se puede fabricar un producto moldeado por compresión como una porción de liberación sostenida o una porción de liberación inmediata que contiene fármaco, o como una composición reseñada en esta memoria utilizando un único método convencional, o una combinación de métodos convencionales. Por ejemplo, al menos un fármaco, al menos uno seleccionado de sustancias poliméricas no dependientes del pH y sustancias poliméricas dependientes del pH, un diluyente tal como manitol o lactosa, un aglutinante tal como polivinilpirrolidona o celulosa cristalina, un desintegrante tal como carmelosa sódica o crospovidona y un lubricante tal como estearato de magnesio o talco, y la formación de comprimidos se lleva a cabo utilizando un método ordinario, mediante el cual se puede obtener el producto moldeado por compresión. En este caso, la formación de comprimidos es la operación principal en el método de fabricación del producto moldeado por compresión, pero esto puede combinarse con otras operaciones tales como mezcladura, secado, formación de recubrimiento de azúcar y recubrimiento.

Ejemplos del método para la formación de comprimidos incluyen moldeo por compresión directa, en el que al menos un fármaco y aditivos farmacológicamente aceptables se mezclan juntos y luego la mezcla se moldea por compresión directamente en comprimidos utilizando una máquina de formación de comprimidos, y compresión de gránulos secos o compresión de gránulos húmedos en los que los gránulos de liberación sostenida o gránulos de liberación inmediata de acuerdo con la presente invención se someten a moldeo por compresión después de añadir un lubricante o un desintegrante según sea necesario. No existen limitaciones particulares en la máquina de fabricación de comprimidos utilizada en el moldeo por compresión; por ejemplo, se puede utilizar una máquina para hacer comprimidos de un solo punzón, una máquina para hacer comprimidos rotativa o una máquina para hacer comprimidos recubiertos por prensado.

Los gránulos de liberación sostenida o los gránulos de liberación inmediata que contienen fármaco, o el producto moldeado por compresión de acuerdo con las realizaciones de esta memoria, se pueden utilizar tal cual en forma de gránulos o un comprimido como composición, pero también se pueden someter a un procesamiento adicional para fabricar la composición. Por ejemplo, al producto o gránulos moldeados por compresión se le puede dar un recubrimiento de película utilizando un material base de película tal como etilcelulosa, caseína, metilcelulosa, hidroxipropilmetylcelulosa, copolímero L de ácido metacrílico, acetato-ftalato de celulosa, goma laca, o se le puede dar un recubrimiento de azúcar utilizando un líquido de recubrimiento de azúcar que contiene sacarosa, alcohol de azúcar, goma arábiga en polvo, talco, produciendo así comprimidos recubiertos con película o comprimidos recubiertos de azúcar. Un disolvente en esta técnica de revestimiento puede ser agua purificada, pero también se puede utilizar un disolvente orgánico tal como un alcohol, una cetona, un éter o un hidrocarburo clorado, o una mezcla de los mismos. Por ejemplo, se pueden utilizar etanol, acetona y cloruro de metileno como disolvente orgánico. Además, como aparato de recubrimiento se puede utilizar un aparato normalmente utilizado en técnicas de recubrimiento para fabricar medicamentos, incluyendo ejemplos un aparato de recubrimiento por pulverización en el que el recubrimiento se lleva

a cabo pulverizando un líquido de recubrimiento, y un granulador de lecho fluidizado con rotor para la formación de capas.

En el caso de fabricar preparaciones en cápsulas, las preparaciones en cápsulas se pueden fabricar llenando gránulos de liberación sostenida o gránulos de liberación inmediata como se indica arriba, o mini-comprimidos en cápsulas de gelatina dura o cápsulas de HPMC utilizando una máquina automática de llenado de cápsulas. Alternativamente, en el caso de las preparaciones para administración por tubo o un jarabe seco que se utiliza mezclado con agua cuando se toma, se pueden mezclar gránulos de liberación sostenida o gránulos de liberación inmediata como los anteriores con un espesante o un dispersante para dispersar estos gránulos, transformándose luego la mezcla en gránulos o comprimidos. Además, se puede preparar un líquido o gelatina utilizando agua y sustancias seleccionadas de dispersantes, emulsionantes, espesantes, conservantes, ajustadores del pH, edulcorantes, saborizantes y fragancias. Sin embargo, con respecto a otros métodos de fabricación, no existen limitaciones a lo anterior.

Para que las realizaciones descritas en esta memoria puedan entenderse más completamente, se recogen los siguientes ejemplos.

EJEMPLOS

Materiales y métodos

Líneas Celulares Testadas

La línea celular utilizada, JHH7, se obtuvo de la Colección Japonesa de Bancos de Células de Biorecursos de Investigación (JCRB), se verificó que no contenía contaminación por micobacterias y se verificó su identidad mediante análisis cortos repetidos en tandem de 9 marcadores.

Condiciones de Estudio y Mantenimiento de la Línea Celular

Células JHH7 se mantuvieron en medio E de William (Thermo Fisher Scientific, 12551-032) con suero bovino fetal al 10 %. Las células se mantuvieron antes y durante los experimentos a 37 °C, 5% de CO₂ y 95 % de humedad relativa. El número de pases celulares se limitó a entre 12 y 20.

Generación de Xenoinjertos, Dosificación y Medición de la Actividad Antitumoral

La línea celular de cáncer hepatocelular humano JHH7 se cultivó en medio E de William (Thermo Fisher Scientific, 12551-032) que contenía suero bovino fetal al 10 % a 37 °C en una atmósfera de 5 % de CO₂ y se mantuvo en fase de crecimiento exponencial. Para la recolección, las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato, se incubaron con tripsina-EDTA al 0,25 % y se suspendieron en una mezcla 1:1 de medio E de William y Matrigel (Coming) a una concentración final de 5×10^7 células/mL. Para generar xenoinjertos, se inyectaron 0,1 mL del inóculo por vía subcutánea en la región del flanco derecho de ratones hembra inmunocomprometidos NU/NU de 6-8 semanas de edad, dando una concentración final de 5×10^6 células/ratón. Cuando el volumen medio del tumor (TV) alcanzó aproximadamente 170 mm³ (10 días después de la implantación), se seleccionaron 144 ratones en función de sus TVs y se clasificaron en 18 grupos de tratamiento con 8 animales por grupo. El tratamiento por vía oral (PO) con Compuesto 1 (300 y 500 mg/kg) solo o en combinación con vehículo (control) o palbociclib (50 y 100 mg/kg) o ribociclib (75 y 150 mg/kg) administrados una vez al día (QD) continuó durante 8 días. El volumen de administración (0,1 mL/10 g de peso corporal) se calculó a partir del peso corporal (BW, por sus siglas en inglés) individual del ratón antes de la administración. Los pesos corporales se midieron diariamente y las mediciones de los tumores se realizaron dos veces por semana.

El modelo de carcinoma hepatocelular primario humano LIX066 de ChemPartner (shangpharma.com) se implantó en ratones hembra con inmunodeficiencia combinada grave (SCID, por sus siglas en inglés). Cuando los tumores se desarrollaron en ratones, los ratones se sacrificaron y los tumores se reseccionaron e implantaron en ratones hembra inmunológicamente deficientes para la conservación del tumor, el diagnóstico histopatológico y el estudio de eficacia in vivo. Se eliminaron los componentes necróticos de los tejidos tumorales sólidos, se cortaron en trozos de 10-15 mg y se mezclaron. Se mezclaron de tres a cinco trozos con 15-30 mL de Matrigel y se implantaron en un flanco de ratones hembra inmunocomprometidos NU/NU de 6-8 semanas de edad que pesaban 18-20 g de ratones inmunológicamente deficientes. Se seleccionaron 30 ratones con un volumen tumoral promedio de 160 mm³ y se aleatorizaron en 6 grupos de 5 ratones cada uno. Todos los tumores humanos primarios utilizados en este estudio se habían sometido a 3-5 pases in vivo y la histología del tumor de cada uno se mantuvo durante el proceso de trasplante en serie. El tratamiento por vía oral (PO) con Compuesto 1 (300 y 500 mg/kg) solo o en combinación con vehículo (control) o palbociclib (50 y 100 mg/kg) o ribociclib (150 mg/kg) administrados una vez al día (QD) continuó durante 17 días. El volumen de administración (0,1 mL/10 g de peso corporal) se calculó a partir del peso corporal (BW, por sus siglas en inglés) individual del ratón antes de la administración. Los pesos corporales se midieron diariamente y las mediciones de los tumores se realizaron dos veces por semana.

El TV en mm³ se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula: TV = largo x ancho 2 x 0,5 largo: diámetro mayor del tumor (mm) ancho: diámetro perpendicular al largo (mm) El % de inhibición del crecimiento tumoral (TGI) se calculó según a la siguiente fórmula: TV = longitud x anchura² x 0,5 longitud: diámetro mayor del tumor (mm) anchura: diámetro perpendicular a la longitud (mm) El % de inhibición del crecimiento del tumor (TGI) se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Control Promedio TV Día X} - \text{Tratamiento TV Día X}}{\text{Control Promedio TV Día X}} \times 100$$

en que el día X es cualquier día de medición

Los efectos antitumorales del tratamiento, la regresión parcial (PR) y completa (CR), la enfermedad estable (SD) y progresiva (PD) se definieron mediante los criterios de respuesta del modelo de xenoinjerto (véase más abajo). Los ratones con una pérdida de peso corporal > 20 % en comparación con su peso corporal del Día 1 o que tenían tumores con el diámetro más largo > 2000 mm fueron sacrificados inmediatamente para evitar cualquier dolor o sufrimiento en el animal según las directrices de la IACUC.

Análisis Estadístico

Los datos se expresan como la media ± EMT para el Volumen del Tumor (TV). Las diferencias en el TV entre grupos se analizaron mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Sidak. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando GraphPad Prism versión 6 (GraphPad Software, La Jolla, CA).

Criterios de Respuesta del Modelo de Xenoinjerto

Enfermedad progresiva (PD): 3 mediciones consecutivas > 120 % del volumen inicial o 3 mediciones consecutivas crecientes desde la mejor respuesta, Enfermedad estable (SD): 3 mediciones consecutivas > 50 % y < 120 % del volumen inicial, Regresión parcial (PR): 3 mediciones consecutivas y < 50 % del volumen inicial, Regresión completa (CR): 3 mediciones consecutivas < 30 mm³.

Formulación de inhibidores de CDK 4/6

En los ejemplos que se presentan a continuación, ribociclib y palbociclib se formularon de la siguiente manera. Este tipo de formulación es ejemplar y no se requiere en realizaciones particulares de la invención. En estos ejemplos, tanto ribociclib como palbociclib se presentaron como bases libres.

Palbociclib se formuló en una solución de bicarbonato de sodio 25 mM, ácido láctico 15 mM con cremafor al 2 %. Añadir primero cremaphor y someter a ultrasonidos hasta que se forme una suspensión fina y uniforme. Esta receta debe prepararse nueva cada vez.

Ribociclib se formuló en metilcelulosa al 0,5 % en agua destilada con cremaphor al 1 %. Añadir primero Cremaphor y someter a ultrasonidos hasta que se forme una suspensión fina y uniforme. Este compuesto debe prepararse nueva cada vez.

Ejemplo 1: Compuesto 1 y Ribociclib

La línea celular JHH7 se cultivó como un xenoinjerto en ratones inmunocomprometidos e inmunodeficientes hembra y los ratones portadores de tumores se trajeron por vía oral diariamente durante 8 días con 300 o 500 mg/kg de Compuesto 1 como agente único o en combinación con 75 y 150 mg/kg de ribociclib. Ribociclib, como agente único a 75 mg/kg, no inhibió significativamente el crecimiento del tumor con 13 % de TGI, mientras que 150 mg/kg inhibieron significativamente el crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) con 23 % de TGI en comparación con los controles del vehículo. Compuesto 1 como agente único a 300 y 500 mg/kg dio como resultado una inhibición significativa del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) con una TGI del 14 % y 35 %, respectivamente, en comparación con los controles del vehículo. La combinación de 300 mg/kg de Compuesto 1 y 75 mg/kg de ribociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con 300 mg/kg de Compuesto 1 como agente único con una TGI del 44 %. La combinación de 300 mg/kg de Compuesto 1 y 150 mg/kg de ribociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con 300 mg/kg de Compuesto 1 solo con una TGI del 64 %. La combinación de 500 mg/kg de Compuesto 1 y 75 mg/kg de ribociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con 500 mg/kg de Compuesto 1 solo con una TGI del 61 %. La combinación de 500 mg/kg de Compuesto 1 y 150 mg/kg de ribociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con los 500 mg/kg de Compuesto 1 solo con una TGI del 73 %.

Estos datos demuestran que ribociclib puede potenciar significativamente los efectos antitumorales de Compuesto 1. El tratamiento con Compuesto 1 como agente único o en combinación con Ribociclib no provocó CR, PR o SD alguna

y todos los grupos tuvieron PD. Todos los grupos de dosificación combinada fueron bien tolerados según las mediciones del peso corporal y la observación clínica de rutina.

Los resultados se muestran en la FIG. 1A a la FIG. 1C.

5 **Ejemplo 2 - Compuesto 1 y Palbociclib**

La línea celular JHH7 se cultivó como un xenoinjerto en ratones inmunocomprometidos e inmunodeficientes hembra y los ratones portadores de tumores se trataron por vía oral diariamente durante 8 días con 300 o 500 mg/kg de Compuesto 1 como agente único o en combinación con 50 y 100 mg/kg de palbociclib. Palbociclib, como agente único a 50 mg/kg, no inhibió significativamente el crecimiento del tumor con 11 % de TGI, mientras que 100 mg/kg inhibieron significativamente el crecimiento del tumor ($P \leq 0,05$) con 26 % de TGI en comparación con los controles del vehículo. Compuesto 1 como agente único a 300 mg/kg dio como resultado una inhibición significativa del crecimiento del tumor ($P \leq 0,01$) con una TGI del 12 % y 500 mg/kg dio como resultado una inhibición significativa del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) con 32 % en comparación con los controles del vehículo. La combinación de 300 mg/kg de Compuesto 1 y 50 mg/kg de palbociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con 300 mg/kg de Compuesto 1 como agente único con una TGI del 59 %.

10 20 La combinación de 300 mg/kg de Compuesto 1 y 100 mg/kg de palbociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con 300 mg/kg de Compuesto 1 solo con una TGI del 77 %. La combinación de 500 mg/kg de Compuesto 1 y 50 mg/kg de palbociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con 500 mg/kg de Compuesto 1 solo con una TGI del 62 %. La combinación de 500 mg/kg de Compuesto 1 y 100 mg/kg de palbociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con 500 mg/kg de Compuesto 1 solo con una TGI del 77 %.

15 30 Estos datos demuestran que palbociclib puede potenciar significativamente los efectos antitumorales de Compuesto 1. El tratamiento con Compuesto 1 como agente único o en combinación con palbociclib no provocó CR, PR o SD alguna y todos los grupos tuvieron PD. Todos los grupos de dosificación combinada fueron bien tolerados según las mediciones del peso corporal y la observación clínica de rutina.

25 Los resultados se muestran en la FIG. 2A a la FIG. 2C.

35 **Ejemplo 3 - Compuesto 1 y Palbociclib**

En un modelo de xenoinjerto derivado de paciente (PDX, por sus siglas en inglés), se inocularon fragmentos de LIX066 PDX en ratones inmunocomprometidos e inmunodeficientes hembra y los ratones portadores de tumores se trataron por vía oral diariamente durante 17 días con 300 o 500 mg/kg de Compuesto 1 como agente único o en combinación con 100 mg/kg de palbociclib. Palbociclib, como agente único a 100 mg/kg, inhibió significativamente el crecimiento del tumor ($P \leq 0,001$), en comparación con los controles del vehículo, con un 62 % de TGI. Todos los animales inscritos en este grupo mostraron PD. El Compuesto 1 como agente único a 300 mg/kg y 500 mg/kg inhibió significativamente el crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con los controles del vehículo, con 59 % de TGI y 70 % de TGI, respectivamente. Todos los animales en los grupos de 300 mg/kg y 500 mg/kg de Compuesto 1 mostraron PD.

40 45 50 La combinación de 300 mg/kg de Compuesto 1 y 100 mg/kg de palbociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con 300 mg/kg de Compuesto 1 solo con una TGI del 96 %. Esta combinación provocó SD en 3/5 animales y PR en 2/5 animales. La combinación de 500 mg/kg de Compuesto 1 y 100 mg/kg de palbociclib dio como resultado una mejora significativa de la inhibición del crecimiento del tumor ($P \leq 0,0001$) en comparación con los 300 mg/kg de Compuesto 1 solo con una TGI del 97 %. Esta combinación provocó SD en 1/5 animales y PR en 4/5 animales. Todos los grupos de dosificación combinada fueron bien tolerados según las mediciones del peso corporal y la observación clínica de rutina.

55 Los resultados se muestran en la FIG. 3A y la FIG. 3B. De acuerdo con el descubrimiento de que Palbociclib puede potenciar los efectos antitumorales de Compuesto 1 en modelos de HCC, pruebas adicionales en 7 modelos PDX más mostraron un potenciamiento similar en 3 de 7 modelos.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación de *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un inhibidor de CDK 4/6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento del carcinoma hepatocelular en un paciente que lo necesita.
2. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administra en una dosis diaria seleccionada del grupo que consiste en entre 50 mg y 600 mg/día, entre 200 mg y 400 mg/día, entre 50 mg/día y 3000 mg/día, 150 mg/día, 300 mg/día, 600 mg/día, 1000 mg/día, 1500 mg/día y 2000 mg/día.
3. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el inhibidor de CDK 4/6 se selecciona del grupo que consiste en 6-acetyl-8-ciclopentil-5-metil-2-{{[5-(piperazin-1-il) piridin-2-il]amino}pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona (palbociclib) y sales farmacéuticamente aceptables de la misma; *N*-(5-((4-etilpiperazin-1-il)metil)piridin-2-il)-5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropil-2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-6-il)pirimidin-2-amina (abemaciclib) y sales farmacéuticamente aceptables de la misma; y dimetilamida del ácido 7-ciclopentil-2-(5-piperazin-1-il-piridin-2-ilamino)-7*H*-pirrolo[2,3-d]pirimidin-6-carboxílico (ribociclib); 2'-((5-(4-isopropilpiperazin-1-il)piridin-2-il)amino)-7', 8'dihidro-6*H*-espiro[ciclohexano1,9' pirazino[1',2':1,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin]-6'-ona (G1T-38); 2'-((5-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-2-il)amino)-7',8'-dihidro-6*H*-espiro[ciclohexano-1,9'-pirazino[1',2':1,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin]-6'-ona (G1T-28); *N*-(4-piperidinil)-4-(2,6-diclorobenzoilamino)-1*H*-pirazol-3 carboxamida (AT-7519); 2-hidroxi-1-[2-[[9-(trans-4-metilciclohexil)-9*H*-pirido[4',3':4,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il] amino]-7,8-dihidro-1,6-naftiridin-6(5*H*)-il]etanona (FLX-925); 2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-((3*S*,4*R*)-3-hidroxi-1-metilpiperidin-4-il)-4*H*-cromen-4-ona (alvocidib) y sales farmacéuticamente aceptables de las mismas.
4. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el inhibidor de CDK 4/6 es palbociclib.
5. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde palbociclib se administra en una dosis diaria seleccionada del grupo que consiste en 75 mg/día, 100 mg/día y 125 mg/día.
6. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el inhibidor de CDK 4/6 es ribociclib.
7. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde ribociclib se administra en una dosis diaria seleccionada del grupo que consiste en 200 mg/día, 400 mg/día y 600 mg/día.
8. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el inhibidor de CDK 4/6 es abemaciclib.
9. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde abemaciclib se administra en una dosis diaria seleccionada del grupo que consiste en 200 mg/día, 300 mg/día y 400 mg/día.
10. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y el inhibidor de CDK 4/6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administran opcionalmente como formulaciones separadas, o como una formulación única, o se administran secuencialmente, o se administran simultáneamente.
11. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida es la forma de base libre de *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida.
12. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administra como una dosis única o en dosis múltiples.
13. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sal farmacéuticamente aceptable de *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida es una forma de sal hidrocloruro de *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida.
14. Una formulación farmacéutica que comprende *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un inhibidor de CDK 4/6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
15. La formulación farmacéutica de la reivindicación 14, que comprende una forma de base libre de *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida.

16. La formulación farmacéutica de la reivindicación 14, en donde la sal farmacéuticamente aceptable de *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida es una forma de sal hidrocloruro de *N*-(2-((6-(3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-metilureido)pirimidin-4-il)amino)-5-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)acrilamida.

5

ES 2 966 469 T3

FIG. 1A

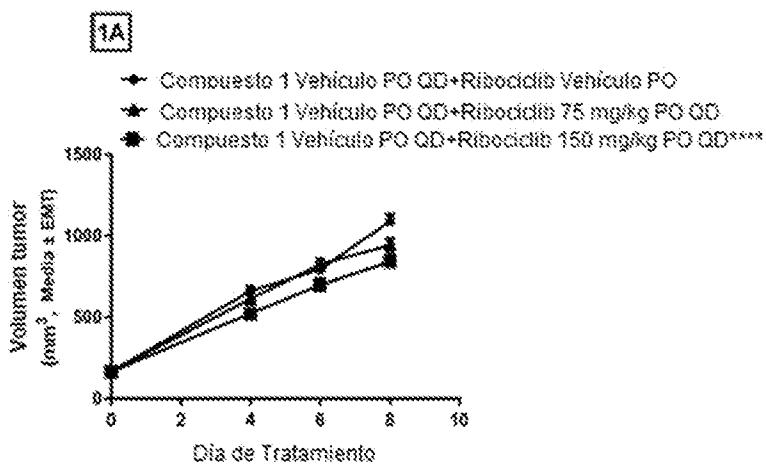


FIG. 1B

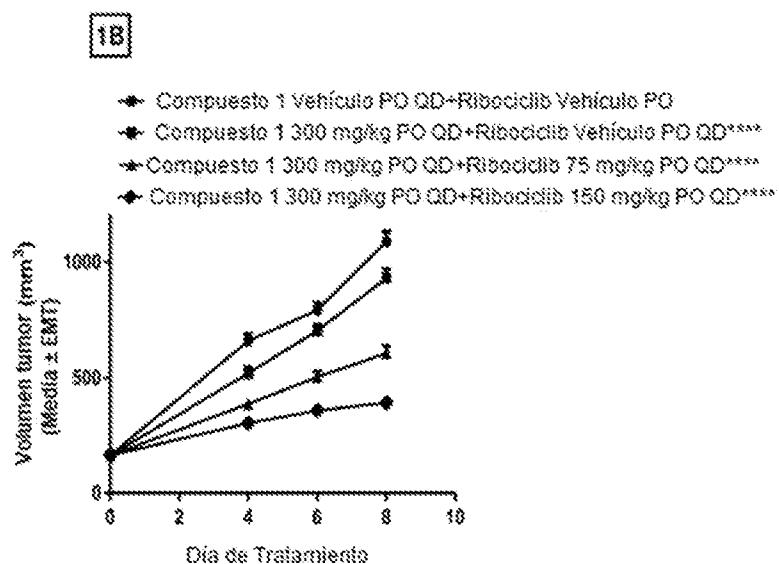


FIG. 1C

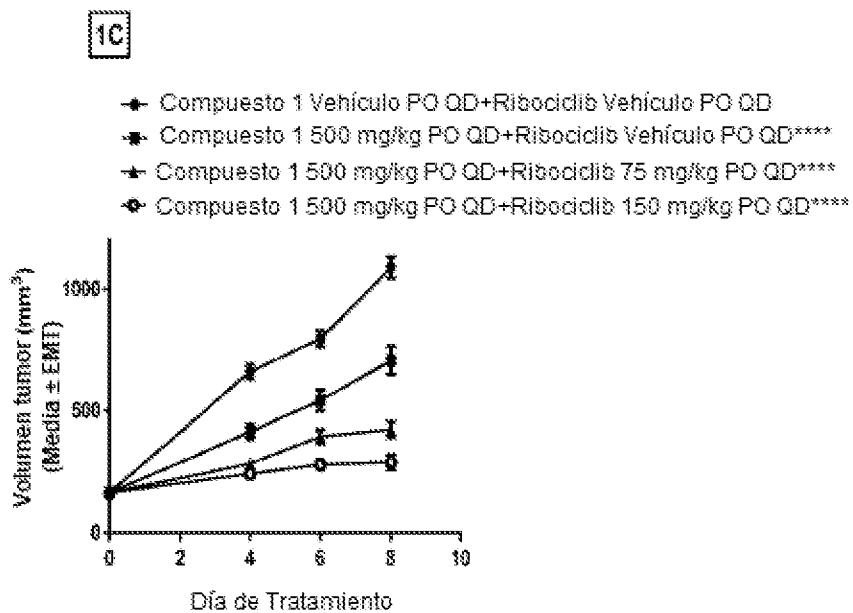


FIG. 2A

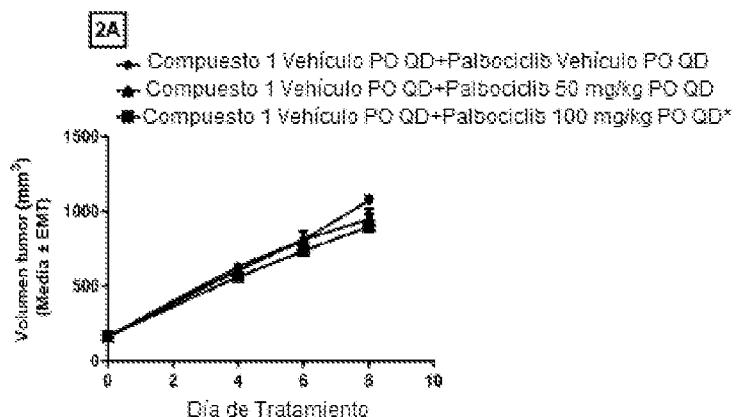


FIG. 2B

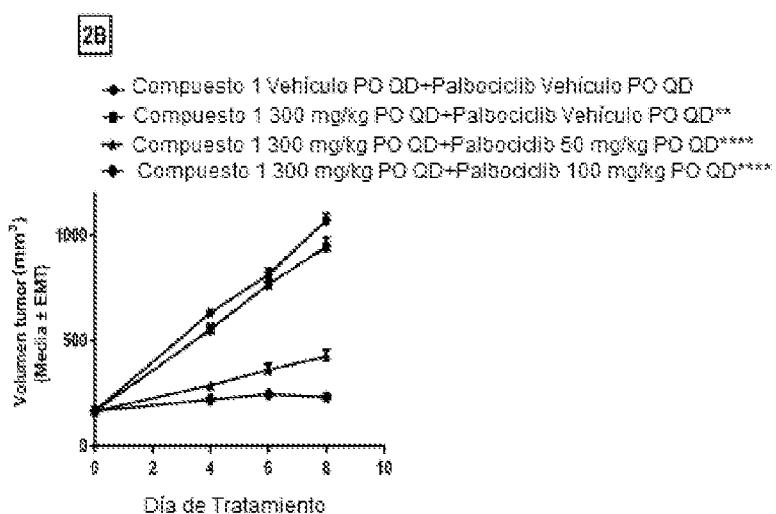


FIG. 2C

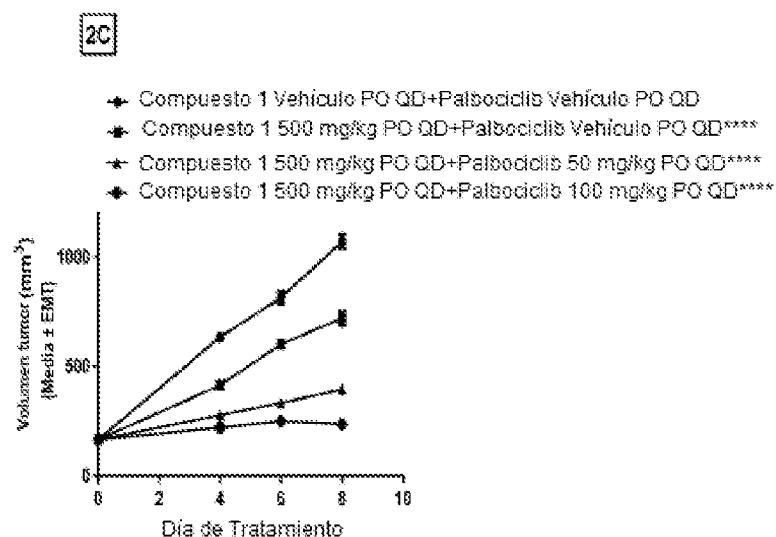


FIG. 3A

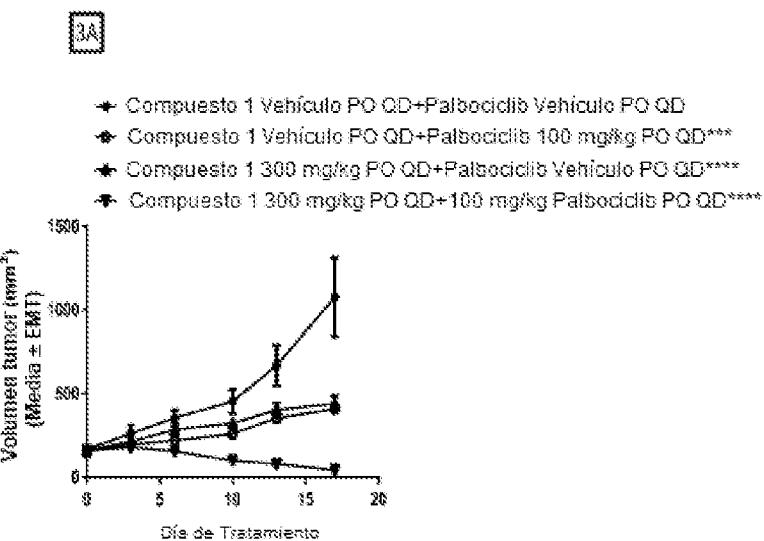


FIG. 3B

