

**Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA**



**DE
ON**

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radiación: 00957404 00000000 Folios: 132
Fecha (ANO): 2000-12-22 16 05:28
Trámite: 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombre y Apellidos o Razón Social: NOVARTIS AG
No. De identificación: _____
Representante legal (Persona jurídica): _____
País de domicilio: SUIZA
Departamento o Estado: _____
Dirección: _____
Ciudad: BASILEA Teléfono: _____

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre: JIMENA ESCOBAR URIBE
Dirección y domicilio: CRA 11A No. 94-78, OFICINA 305
Ciudad: BOGOTA D.C. Teléfono: _____

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre de Inventor (es): 1. CARLO GAMBACORTI-PASSERINI 2. PHILIPP LECOUTRE
Identificación: _____
Dirección: 1. MONZA ITALIA 2. BERLIN ALEMANIA
Ciudad: _____ Teléfono: _____

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la invención: COMBINACIONES DE UN INHIBIDOR DE GINASA DE TIROSINA RECEPTORA CON UN
COMPUESTO ORGANICO CAPAZ DE ENLAZARSE CON GLICOPROTEINA ACIDO-a.
PRIORIDAD REIVINDICADA. SI ☒ NO ☐ TIPO DE PRIORIDAD: ANDINA ☐ UNIONISTA ☒
(33) País: ITALIA Fecha: Diciembre 27, 1992 (31) No. Solicitud: MI99A002711
Para publicar a los: ☒ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente solicitud
(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL: A61K 31/519, 31/407 2402/P

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

Proveer combinaciones de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit, con un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 (AGP), así como a preparaciones farmacéuticas y/o terapias, en relación con estados de enfermedad que respondan a la inhibición de cinasa de tirosina de abl, receptora PDGF, y/o receptora de Kit. En particular, la invención se refiere a productos o combinaciones que comprenden un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF y/o receptora de Kit con un compuesto orgánico capaz de enlazarse con AGP, en una combinación fija, o para su administración cronológicamente escalonada o simultánea, y al uso combinado de ambas clases de compuestos, ya sea en una combinación fija, o para su administración cronológicamente escalonada o simultánea, para el tratamiento de enfermedades proliferativas, especialmente enfermedades tumorales especialmente aquellas que se puedan tratar mediante la inhibición de la actividad de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

Certificado de Existencia y representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica No. 17398 ☒

Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la SIC No. 17398 ☒

Recibo de las tasas respectiva No. 74,562 ☒

Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación ☐

Si se reivindica prioridad Andina: ☐

Copia de la primera solicitud ☐

Traducción oficial ☐

Si se reivindica prioridad Unionista: ☐

Copia certificada de la primera solicitud ☐

NOTA: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior

Traducción Simple ☐

Capítulo descriptivo ☒

Dibujos, planos necesarios ☒

Capítulo reivindicatorio ☒

Tarjeta de archivo propietarios según formato ☒

Tarjeta archivo temático según formato ☒

Extracto para publicación según formato ☒

Arte final 12 X 12 cms y 6 X 6 cms ☐

Otros Documentos

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA
NOMBRE


JIMENA ESCOBAR URIBE

C.C. 39.779.452

T.P. No. 68.228

12402

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 74.562
FECHA : DICIEMBRE 4 DE 2000

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 06097404 00000000 Folios: 135
Fecha (MD): 2000-12-22 16:05:28
Tramite : 002 PATENTES 0 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
ESCOBAR URIBE ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOSOTA	050-00110-6	1717367	13.005.000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608.000.00
	TOTAL :	\$ 608.000.00

SON: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Solicito expresamente a nombre de la sociedad **NOVARTIS AG**, sociedad constituida de conformidad con las leyes de Basilea, Suiza, domiciliada en Basilea, Suiza, el otorgamiento de Patente para la invención titulada " **COMBINACIONES DE UN INHIBIDOR DE CINASA DE TIROSINA RECEPTORA CON UN COMPUESTO ORGANICO CAPAZ DE ENLAZARSE CON GLICOPROTEINA ACIDO- α_1** ". Clase: A61.


JIMENA ESCOBAR URIBE
C.C. 39.779.452 de Usaquén
T.P. 68.228
Cod. 5376

COMBINACIONES DE UN INHIBIDOR DE CINASA DE TIROSINA RECEPTORA
CON UN COMPUESTO ORGANICO CAPAZ DE ENLAZARSE CON GLICOPROTEINA

ACIDO- α_1

5 Esta invención se refiere a combinaciones de un inhibidor
de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora
de Kit, con un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glico-
proteína ácida- α_1 (AGP), así como a preparaciones farmacéuticas
y/o terapias, en relación con estados de enfermedad que respon-
10 dan a la inhibición de cinasa de tirosina de abl, receptora
PDGF, y/o receptora de Kit. En particular, la invención se re-
fiere a productos o combinaciones que comprenden un inhibidor
de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF y/o receptora
de Kit con un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glico-
15 proteína ácido- α_1 , en una combinación fija, o para su adminis-
tración cronológicamente escalonada o simultánea, y al uso com-
binado de ambas clases de compuestos, ya sea en una combinación
fija, o para su administración cronológicamente escalonada o
simultánea, para el tratamiento de enfermedades proliferativas,
20 especialmente enfermedades tumorales especialmente aquéllas que
se puedan tratar mediante la inhibición de la actividad de ci-
nasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de
Kit.

Antecedentes de la Invención

Se sabe que un número de compuestos inhiben la proliferación de células por medio de la inhibición de la cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit. Por ejemplo, la Solicitud Internacional Número WO 98/35958, la Solicitud de Patente Internacional Número WO 97/02266, y especialmente la Solicitud de Patente Europea Número EP 0,564,409-A, así como la Solicitud Internacional Número WO 99/03854, todas las cuales se incorporan a la presente como referencia, mencionan compuestos que son inhibidores de cuando menos una de las ^{tirosin-cinasas} cinasas de tirosina mencionadas anteriormente. Además, los compuestos que son de interés, son Tirfostina AG957 (ver Kaur y colaboradores, Anticancer Drugs 5, 213-222 (1994)), Herbimicina A (Okabe and Uehara, Leukemia and Lymphoma 12, 2156-2162 (1994), Blood 80, 1330-1338 (1994) y Leuk. Res 18, 213-220 (1994), así como Rioran y colaboradores, Oncogene 16, 133-1542 (1998)); Tirfostinas AG 1295, AG 1296 (ver Kovalenko y colaboradores, Cancer Res 54, 6106-6114 (1994), Lipson y colaboradores, Pharmacol & Exp- Therap. 285, 844-852 (1998), Krystal y colaboradores, Cancer Res. 57, 2203-2208 (1997)); SU 101 (Leflunomida), así como su metabolito (ver Shawer y colaboradores, Clin. Cancer Res. 3, 1167-1177 (1997), Mattar y colaboradores FEBS Lett 334, 161-164 (1993), Cherwinskyi y colaboradores, Inflamm. Res. 3, 1167-1177 (1997), y Strawn y colaboradores, Exp. Opin. Invest. Drugs 7, 533-573 (1998)); y Piridopirimidinas

(ver, por ejemplo Hamby y colaboradores, J. Med. Chem. 40, 2296-2303 (1997), Dahring y colaboradores, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281, 1446-1456 (1997), Klutcho y colaboradores, Life Sci. 62, 143-150 (1998), Panek y colaboradores J. Pharmacol. Exp. Ther 283, 1433-1444 (1997), Boschelli y colaboradores, J. Med. Chem. 41, 4365-4377 (1998)). Todas las referencias mencionadas anteriormente se incorporan a la presente como referencia.

Estos compuestos, como se describen en las Solicitudes de Patentes mencionadas y en otras publicaciones, han demostrado ser efectivos en la profilaxis, y especialmente en el tratamiento de enfermedades que son ocasionadas por la desregulación de la fosforilación y/o de la actividad de las cinasas de tirosina recién mencionadas.

La fosforilación de proteínas se ha conocido durante mucho tiempo como un paso esencial en la diferenciación y en la división de las células. La fosforilación es catalizada por las cinasas de proteína subdivididas en las cinasas de serina/treonina y de tirosina. Las cinasas de tirosina comprenden la cinasa de tirosina receptora de PDGF (Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas) = PDGF-R TK, la cinasa de tirosina de abl (abl), y la cinasa de tirosina receptora de Kit (Kit R TK). Cuando se desregulan estas cinasas de tirosina, por ejemplo, por medio de mutación o activación a través de factores externos, por ejemplo compuestos (compuestos internos naturales, ta-

les como PDGF, o compuestos externos) que se enlazan con ellas, entre otras cosas, el resultado es la desregulación del crecimiento celular.

El PDGF (Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas) es un factor de crecimiento que se presenta con mucha frecuencia, que tiene un papel importante tanto el crecimiento normal como en la proliferación celular patológica, tal como en la carcinogénesis y en los desórdenes en las células de músculo liso de los vasos sanguíneos, por ejemplo en aterosclerosis y trombosis. Su inhibición se puede medir en analogía al procedimiento descrito en la Patente Europea Número EP 0,564,409, mencionada anteriormente (ver también E. Andrejauskas-Buchdunger y U. Regenass en Cancer Research 52, 5353-5358 (1992)).

La inhibición de cinasa de abl, por ejemplo, la cinasa de tirosina de v-abl, se determina de acuerdo con los métodos de N. Lydon y colaboradores, Oncogene Research 5, 161-173 (1990) y J.F. Geissler y colaboradores, Cancer Research 52, 4492-4498 (1992). En estos métodos, se utilizan [Val⁵]-angiotensina II y [γ -³²P]-ATP como sustratos.

La inhibición de la cinasa de tirosina receptora de Kit se puede medir, por ejemplo, como en el ensayo de cinasa c-Kit in vitro:

El ensayo de cinasa c-Kit in vitro se realiza en placas de 96 pozos como un ensayo de enlace de filtro, utilizando el dominio de cinasa c-Kit fusionado con GST(glutathione-S-

transferasa) recombinante expresado en baculovirus, y purificado sobre glutathiona-Sepharose. La proteína de fusión con GST se incuba bajo condiciones optimizadas en la presencia o en ausencia de fármaco, y la inhibición de cinasa se mide detectando la reducción en la fosforilación del péptido P-275 de poli(GluTyr)(4:1). Se utiliza Gamma-[³³P]-ATP como el donador de fosfato. De una manera alternativa, es posible utilizar un ensayo celular para c-Kit: A las células que sobreexpresan c-Kit se les agota el suero, y se incuban durante 90 minutos a 37°C con el fármaco, antes de su estímulo con el factor de células de tallo humano recombinante. Se analizan cantidades iguales de proteína a partir de los lisados celulares, para determinar la inhibición de fosforilación de c-Kit mediante Western blot, utilizando anticuerpos contra la fosfotirosina.

Debido a las propiedades descritas, los compuestos que muestran inhibición de una de las cinasas de tirosina mencionadas anteriormente, se pueden utilizar como terapéuticos, especialmente para el tratamiento de enfermedades proliferativas, tales como cáncer, especialmente tumores y leucemias.

Los compuestos, por otra parte, se pueden utilizar no solamente como ingredientes activos inhibidores de tumores, sino también como fármacos contra enfermedades proliferativas no malignas, por ejemplo aterosclerosis, trombosis, psoriasis, esclerodermatitis, y fibrosis. También son adecuados para las aplicaciones adicionales mencionadas anteriormente para los mo-

duladores de cinasa C de protefina, y se pueden utilizar especialmente en el tratamiento de enfermedades que respondan a la inhibición de la cinasa receptora de PDGF.

Un inhibidor de cinasa de tirosina como se describe anteriormente, también inhibe la cinasa de BCR/Abl (ver Nature Medicine 2, 561-566 (1996)) y por lo tanto, es adecuado para el tratamiento de cáncer y enfermedades tumorales positivas para BCR/Abl, tales como leucemias (especialmente leucemia mieloide crónica y leucemia linfoblástica aguda, en donde se encuentran especialmente mecanismos de acción apoptóticos), y también muestra efectos sobre el subgrupo de células de tallo leucémicas, así como el potencial para la purificación de estas células *in vitro* después de remover estas células (por ejemplo, remoción de médula ósea) y reimplantación de las células una vez que se han liberado de las células de cáncer (por ejemplo, reimplantación de células de médula ósea purificadas).

En adición, un inhibidor de cinasa de tirosina como se describe anteriormente, puede mostrar efectos útiles en el tratamiento de desórdenes que se presenten como un resultado de trasplante, por ejemplo trasplante alogénico, especialmente rechazo de tejido, tal como especialmente bronquiolitis obliterativa (OB), es decir, un rechazo crónico de trasplantes de pulmón alogénicos. En contraste con los pacientes sin OB, aquéllos con OB con frecuencia muestran una concentración elevada de PDGF en los fluidos de lavado broncoalveolares. Los

inhibidores de cinasa de tirosina también pueden ser efectivos en enfermedades asociadas con la migración y proliferación de células de músculo liso vasculares (en donde el PDGF y el PDGF-R con frecuencia también tienen un papel), tales como restenosis y aterosclerosis. También puede inhibir la angiogénesis.

Todos estos usos se describen con detalle en las Patentes Números EP 0,564,409; WO 97/02266; WO 99/03854 y WO 98/35958, o en las otras referencias mencionadas anteriormente.

Un ejemplo de un compuesto que muestra actividad inhibidora sobre las cinasas de tirosina anteriormente mencionadas, es el compuesto denominado 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino)fenil]benzamida, que se describe en la Patente Europea Número EP 0,564,409, y en la forma de la sal de metansulfonato (STI571 posteriormente en la presente), de preferencia en la forma del cristal- β , en la Publicación Internacional Número WO 99/03854.

Este compuestos es un potente inhibidor de bcr/abl, una proteína de fusión oncogénica que ocasiona Leucemia Mieloide Crónica (CML). Sin embargo, se ha observado en un ensayo clínico continuo, que los pacientes de CML en crisis, y los pacientes de Leucemia Linfoblástica Aguda Positiva de Cromosoma Filadelfia reincidentes (Ph+-ALL) muestran solamente respuestas temporales al STI571, que son seguidas por un breve período de tiempo por el desarrollo de resistencia.

Previamente mostramos que este compuesto puede curar rato-

nes inyectados con células leucémicas BCR/ABL+humanas, si se mantiene una inhibición continua de la actividad de cinasa de bcr/abl. Este modelo se utilizó para estudiar el posible desarrollo de resistencia a STI571. Cuando se trataron animales que tenían tumores grandes (>400 miligramos), se observó una reducción del tumor en todos los animales, con desaparición en algunos. Sin embargo, ningún animal se curó, y los animales reincidentes no respondieron a un tratamiento adicional, y la actividad de cinasa de bcr/abl no fue inhibida por la administración de STI571 *in vivo*, aunque se obtuvieron concentraciones en plasma activas (aproximadamente 10 μ M). Los tumores se separaron de los animales resistentes reincidentes, se pusieron en cultivo, y se probaron dentro de 24 horas para determinar su sensibilidad *in vitro* al STI571. 5/5 tumores examinados mostraron una IC₅₀ (0.1-0.3 μ M) no significativamente diferente de aquélla de la línea parental KU812.

Se puede desarrollar resistencia como el resultado de varios factores, operando al nivel celular, o bien solamente *in vivo*. Se puede desarrollar resistencia al fármaco, por ejemplo, como un resultado de mutación/amplificación del gen blanco, inducción de metabolismo, y, paradójicamente, una mayor degradación posterior a la traducción de la proteína blanco, y similares.

De una manera sorprendente, se ha encontrado que los datos farmacocinéticos indicaron que los animales reincidentes alcan-

zaron concentraciones pico similares a las de los controles, pero mostraron una reducción significativamente más lenta en las concentraciones de STI571 a través del tiempo. Ahora hemos encontrado que esto se debe a la presencia de un factor de enlace en el plasma de los animales reincidentes, que puede reducir la distribución del tejido, y liberar el STI571. Se probaron un número de proteínas *in vitro*, para determinar su capacidad para inhibir la actividad biológica del STI571. Aunque la albúmina no tiene influencia sobre la inhibición por el STI571 de la proliferación de KU812, la glicoproteína ácida- α_1 (AGP) lo hace en concentraciones fisiológicas, incrementando la IC_{50} para STI571 hasta 90 veces. La AGP también inhibe el efecto del STI571 sobre la fosforilación de bcr/abl *in vitro*. La Constante de Asociación (K_a) para el enlace específico con STI571 se calcula y se encuentra que es 60 veces más alta en AGP que en la albúmina. Los niveles de AGP se miden en ratones mediante un inmunoensayo. Se encuentra una fuerte correlación entre la carga tumoral y las concentraciones de AGP. En adición, el tratamiento previo con STI571 *in vivo* también incrementa los niveles en plasma de AGP. De acuerdo con lo anterior, los animales previamente tratados con STI571, y luego inyectados con células KU812 y tratados con STI571 24 horas más tarde, responden menos al tratamiento que los controles (animales curados: 8/16 contra 16/16, $p > 0.01$). Estos resultados sugieren que la elevación de los niveles de AGP, ya sea inducida por el

tumor o por el tratamiento mismo, es responsable del desarrollo de resistencia al STI571.

La presente invención tiene la tarea de proporcionar un medio para superar la resistencia que se desarrolla en los animales de sangre caliente si se aplica STI571 o cualquier otro de los inhibidores de cinasa de tirosina mencionados anteriormente, durante el tratamiento de una enfermedad, como se mencionó anteriormente.

El resultado sorprendente de que la resistencia contra un inhibidor de cinasa de tirosina, especialmente STI571, se puede deber al enlace de AGP, y por lo tanto, a la concentración libre más baja del fármaco activo en el plasma sanguíneo, forma una base para la búsqueda de una solución, sea mediante la detención de una molécula reguladora, por ejemplo una proteína reguladora, para que no se permita la activación de la transcripción del gen de AGP, mediante la detención de la amplificación del gen de AGP, mediante la inhibición de la transcripción genética del ARNm que codifica AGP, mediante la inhibición de la traducción de este ARNm en la proteína madura, mediante la influencia en su distribución y acabado hasta la glicoproteína final, mediante la inhibición de su secreción hacia el plasma sanguíneo, mediante la dosificación más grande del inhibidor de cinasa de tirosina, mediante la neutralización de la AGP, por ejemplo por anticuerpos, mediante la activación del metabolismo o la eliminación del plasma, mediante la activación de la de-

gradación posterior a la traducción de AGP o sus precursores, y similares.

Inesperadamente, en vista de los reportes que informan que hay dudas sobre la relevancia del desplazamiento del fármaco durante la terapia de fármacos combinados (ver, por ejemplo, Kremer y colaboradores, Pharmacological Rev. 40 (1), 1-47 (1988)), se ha encontrado que es posible, mediante la combinación de uno o más compuestos de enlace de AGP, con un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit, superar este tipo de resistencia.

Por consiguiente, la presente invención permite tener una mejora importante en la terapia de pacientes que tengan una de las enfermedades mencionadas en la presente divulgación.

15 Compendio de la Invención

Esta invención se refiere a una combinación de (a) un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit (componente (a)) y (b) un compuesto orgánico capaz de enlazarse con una glicoproteína ácida- α_1 (AGP) (componente (b)), así como a preparaciones farmacéuticas y/o terapias, en relación con estados de enfermedad que respondan a la inhibición de la cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit. En particular, la invención se refiere a productos o combinaciones que comprenden (a) un inhibidor de

20

25 cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de

Kit, y (b) un compuesto orgánico capaz de enlazarse con la glicoproteína ácido- α_1 (AGP), ya sea en una combinación fija, o para su administración cronológicamente escalonada o simultánea, y al uso combinado de ambas clases de compuesto, ya sea en una combinación fija o para su administración cronológicamente escalonada o simultánea, para el tratamiento de enfermedades proliferativas, especialmente enfermedades tumorales, especialmente aquéllas que puedan ser tratadas mediante la inhibición de la actividad de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit.

Descripción de las Figuras

Las Figuras 1A y B muestran los efectos de la carga tumoral inicial y de la duración del tratamiento con STI571.

Figura 1A: Se inyectaron dos grupos de 15 ratones sin pelo con 50×10^6 células leucémicas KU812. El tratamiento con STI571 (160 miligramos/kilogramo oralmente cada 8 horas durante 11 días) se inicia después de un día (grupo I; cuadros) o después de 8 días (grupo II; rombos) en la presencia de un peso de tumor promedio de 276 ± 97 miligramos. Los números entre paréntesis indican el número de animales exentos de tumor.

Figura 1B: Los ratones sin pelo inyectados con células KU812 se tratan con STI571 (160 miligramos/kilogramo oralmente cada 8 horas durante 11 días) después de un día (grupo I), después de 8 días (grupo II, peso del tumor promedio de 253 ± 122

miligramos), o después de 15 días (grupo III, peso del tumor promedio de 1054 ± 258 miligramos). Los resultados representan el promedio de tres experimentos consecutivos.

Figura 1C: Los animales pertenecientes al grupo II se dejan sin tratamiento (controles), o se tratan con STI571 (160 miligramos/kilogramo oralmente cada 8 horas) durante 11 ó 18 días con STI571.

La Figura 2 muestra el efecto del re-tratamiento con STI571 sobre la reincidencia del tumor después de una respuesta inicial al STI571. Las líneas punteadas se refieren al crecimiento si los tumores no fueron tratados (ver la parte de métodos en los Ejemplos).

La Figura 3 muestra la sensibilidad *in vitro* a STI571 de dos tumores resistentes *in vivo*. Los valores se expresan como un porcentaje de los controles que incorporaron $129'362 \pm 6329$ cpm.

La Figura 4 muestra la inhibición *in vivo* de la actividad de cinasa de Bcr/Abl mediante STI571. Los ratones que tienen tumor se tratan agudamente con STI571 oralmente (160 miligramos/kilogramo), y se sacrifican en diferentes puntos del tiempo. Las muestras de tumor se extraen y se utilizan para el análisis Western blot con anti-fosfotirosina (pTyr) o anti-Abelson (Abl). El STI571 inhibe eficientemente la fosforilación de la cinasa de tirosina de BCR/ABL en los controles (Ctrl) a las 2 y a las 4 horas (inhibición del 80 por ciento y del 50

por ciento mediante análisis densitométrico), comparándose con los animales no tratados (n.t.), mientras que los extractos de los animales reincidentes (Rel) son resistente al tratamiento con STI571.

5 La Figura 5 muestra las concentraciones en plasma y en tumor de STI571, en ratones que tienen tumor previamente tratados o no con STI571. Los animales se tratan agudamente con STI571 (160 miligramos/kilogramo oralmente), y se sacrifican a las 0.5, 2, y 5 horas más tarde. El STI571 se determina mediante
10 HPLC en muestra de plasma y en extractos de tumor. Los ratones de control nunca reciben un tratamiento previo con STI571, mientras que los ratones previamente tratados se someten a dos ciclos de 11 días de STI571 (como en la Figura 2). Los pesos de tumor promedio son de 450 ± 129 miligramos en los controles
15 de 684 ± 283 miligramos en los ratones previamente tratados.

La Figura 6 muestra la sensibilidad *in vitro* a STI571 de células KU812 en la presencia de glicoproteína ácida α_1 (A) y albúmina (B) (ver la recuperación de ^3H -timidina en los métodos).

La Figura 7 muestra el efecto de dos muestras de suero que
20 contienen diferentes cantidades de AGP sobre la actividad *in vitro* de STI571 sobre células KU812.

Las Figuras 8A y B muestran la determinación de AGP en ratones normales y que tienen tumor.

Figura 8A: Concentraciones en plasma promedio de AGP en
25 ratones con diferentes estados de enfermedad o de tratamiento.

Grupo 1 (n=11) se refiere a ratones normales, grupo 2 (n=8) a ratones tratados con STI571 durante 11 días (y muestreados tres días después de la discontinuación del tratamiento), grupo 3 (n=6) a ratones que tienen un tumor de 8 días de edad (peso promedio de 304 ± 116 miligramos), grupo 4 (n=7) a ratones que tienen un tumor de 15 días de edad (peso promedio de 1184 ± 295 miligramos).

Figura 8B: Determinación directa de AGP en ratones normales y que tienen tumor, mediante isoelectroenfoque: las pistas 1-2 se refieren a ratones normales, las pistas 3-4 a los animales que tienen tumores grandes (>1 gramo). Las diferentes isoformas de AGP se indican y están comprendidas entre un pH de 3.4 y 4.0.

La Figura 9 muestra el efecto de AGP (en 1 miligramos/mililitro) y eritromicina, sobre la actividad de STI571 (en un μM) sobre células KU812.

La Figura 10 muestra el efecto de AGP y eritromicina sobre la inhibición de la autofosforilación de bcr/abl inducida por STI571.

Se incuban 3×10^6 células por pozo a 37°C con base de eritromicina ($100 \mu\text{M}$), STI571 ($3 \mu\text{M}$) AGP (2 miligramos/mililitro). Después de 1 hora, la células se lavan dos veces con suero regulado con fosfato frío (PBS), y subsecuentemente se lisan en 500 microlitros de regulador de Laemmli 1 x. Los lisados celulares que corresponden a 90,000 células se analizan

mediante electroforesis SDS sobre poliacrilamida al 7.5 por ciento. Se detectan bcr/abl endógeno y bcr/abl fosforilado con tirosina, con el anticuerpo monoclonal de ratón correspondiente.

5 Las Figuras 11A y B muestran el efecto *in vivo* de la eritromicina sobre la co-administración con STI571 a ratones que tienen tumor. Los animales que tienen tumores de 11 días de edad se asignan aleatoriamente a dos grupos separados. 15 ratones se tratan con STI571 y eritromicina (peso de tumor promedio de 385 $\pm$ 53 miligramos), mientras que otros 15 ratones recibieron solamente STI571 (peso de tumor promedio de 390 $\pm$ 114 miligramos). Los grupos de control reciben eritromicina solamente, resuspendida en metilcelulosa al 5 por ciento (5 ratones), o metilcelulosa al 5 por ciento solamente (6 ratones).

15 Figura 11A: Pesos de tumor promedio durante el tratamiento (días 0-20).

Figura 11B: Porcentaje de ratones que tienen tumor: en cada punto del tiempo, se calcula el porcentaje de los ratones que tienen un tumor palpable sobre el número total de ratones vivos en ese momento. El número de ratones vivos en cierto punto del tiempo se indica por los números entre paréntesis (durante los experimentos 2 y 3, los animales se sacrificaron accidentalmente en el grupo que recibía solamente STI571, y en el grupo que recibía el tratamiento combinado, respectivamente).

20

25

La Figura 12 muestra el efecto del tratamiento previo sobre el efecto anti-leucémico de STI571. Dos grupos de ratones sin pelo se tratan con STI571 (160 miligramos/kilogramo cada 8 horas) durante 11 días, empezando en el día 1 después de la inyección de células leucémicas. La línea punteada se refiere a los animales de control, no tratados previamente. La línea sólida se refiere a los animales que han recibido un tratamiento idéntico de STI571, 14 días antes de ser inyectados con células leucémicas bcr/abl + de KU812.

10

Descripción Detallada de la Invención

De una manera sorprendente, se han observado efectos positivos, y de preferencia inclusive sinérgicos, entre los inhibidores de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y los compuestos orgánicos capaces de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 (AGP) en modelos de xenoinjerto de ratones sin pelo. Esta es una evidencia de que los inhibidores de cinasa de tirosina se pueden utilizar no solamente como agentes individuales, sino también especialmente en una terapia de combinación con compuestos orgánicos capaces de enlazarse con AGP para el tratamiento de enfermedades de cáncer.

20

Esta combinación ofrece una gran cantidad de ventajas: en primer lugar, los inhibidores de cinasa de tirosina pueden exhibir efectos secundarios significativos hasta efectos realmente tóxicos, de modo que simplemente la compensación del en-

25

lace de AGP mediante un incremento de la dosis de un inhibidor de cinasa de tirosina con frecuencia es muy difícil o imposible, con el objeto de obtener un equilibrio responsable entre el uso terapéutico y los efectos secundarios. Sin embargo, en las nuevas combinaciones descritas en la presente, es posible disminuir la cantidad de inhibidor de cinasa de tirosina necesaria, y por lo tanto, aliviar los efectos secundarios. Segundo, el compuesto orgánico que se puede utilizar como el compuesto capaz de enlazarse con AGP, se puede seleccionar a partir de compuestos con muy alta tolerabilidad, permitiendo de esta manera una gran flexibilidad en el tratamiento de pacientes de cáncer. Tercero, debido al hecho de que la liberación de los inhibidores de cinasa de tirosina farmacéuticamente activos a partir de AGP que se enlace en plasma, abre una ruta totalmente nueva de tratamiento, también es posible tratar tipos de cáncer que hayan sido muy difíciles de tratar, o inclusive prácticamente no afectados por la terapia con quimioterapéuticos convencionales. Más importante, es posible superar la desensibilización *in vivo* (resistencia) de las células proliferativas a un inhibidor de cinasa de tirosina, que pueda estar presente ya sea al principio del tratamiento (por ejemplo, de preferencia debido a altos niveles de AGP en el plasma sanguíneo), o que bien pueda haberse desarrollado o se esté desarrollando durante el tratamiento con un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, como se descri-

be en la presente divulgación.

La presente invención de preferencia se refiere a una preparación en combinación que comprende (a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y (b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 (AGP); o sales farmacéuticamente aceptables de cualquier componente (a), (b), ó (a) y (b), si está presente cuando menos un grupo formador de sal.

La invención también se refiere a un método para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que se pueda tratar mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, en donde:

- (a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y
- (b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 (AGP),

se administran a un mamífero en combinación con una cantidad que sea conjuntamente efectiva terapéuticamente contra una enfermedad proliferativa que se pueda tratar mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal.

La invención también se refiere a un producto que compren-

de:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

(b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse
5 con glicoproteína ácida- α_1 (AGP),

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,

en la presencia o en ausencia de uno o más materiales de
10 vehículo farmacéuticamente aceptables, como una preparación en combinación para su uso simultáneo o cronológicamente escalonado dentro de un período de tiempo que sea suficientemente pequeño para que los compuestos de tanto el componente (a) como del componente (b), mejoren la actividad antiproliferativa del
15 compuesto (a) contra las células proliferantes, especialmente en un paciente, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que responda a este compuesto.

La invención también se refiere a una preparación farmacéutica que comprende una cantidad, que es conjuntamente efectiva para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que
20 pueda ser tratada mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, de:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

25 (b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse

con glicoproteína ácida- α_1 ,

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,

5 con uno o más materiales de vehículo farmacéuticamente aceptables.

La invención también se refiere al uso de una combinación de:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de
10 abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

(b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 ,

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,
15 para producir preparaciones farmacéuticas para utilizarse como composiciones contra una enfermedad proliferativa que pueda ser tratada mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit.

20 Se incluye el uso en un método para inhibir la hiperproliferación de células, el cual comprende poner en contacto las células hiperproliferantes con una preparación farmacéutica o producto como se especifica en los últimos dos párrafos, especialmente un método para el tratamiento de una enfermedad pro-
25 liferativa, el cual comprende poner en contacto a un sujeto, a

las células, a los tejidos, o a un fluido corporal de este sujeto, del que se sospeche que tenga una enfermedad hiperproliferativa, con una composición o producto farmacéutico como se especifica en los últimos dos párrafos.

5 Los términos generales utilizados anteriormente en la presente y posteriormente en la presente, de preferencia tienen los siguientes significados, si no se indica de otra manera:

El término "cuando menos uno", haciendo referencia a: a) inhibidores de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, o b) compuestos orgánicos capaces de enlazarse con glicoproteína ácido- α_1 , se refiere a uno o más, especialmente uno a cinco miembros de cada grupo a) o b), de preferencia a un compuesto del grupo a) y uno o más, especialmente 1 a 5, más especialmente 1 ó 2 compuestos del grupo b).

15 El término "inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit", de preferencia significa uno de los siguientes compuestos:

Un compuesto mencionado en la Solicitud Internacional Número WO 97/02266, en la Solicitud de Patente Internacional Número WO 98/35958, y especialmente en la Solicitud de Patente Europea Número EP 0,564,409-A, así como en la Solicitud Internacional Número WO 99/03854, todas las cuales se incorporan a la presente como referencia; Tirfostina AG957 (ver Kaur y colaboradores, Anticancer Drugs 5, 213-222 (1994)), Herbimicina A
25 (Okabe and Uehara, Leukemia and Lymphoma 12, 2156-2162 (1994),

Blood 80, 1330-1338 (1994) y Leuk. Res 18, 213-220 (1994), así como Rioran y colaboradores, Oncogene 16, 133-1542 (1998)); Tirfostinas AG 1295, AG 1296 (ver Kovalenko y colaboradores, Cancer Res 54, 6106-6114 (1994), Lipson y colaboradores, Pharmacol & Exp- Therap. 285, 844-852 (1998), Krystal y colaboradores, Cancer Res. 57, 2203-2208 (1997)); SU 101 (Leflunomida), así como su metabolito (ver Shower y colaboradores, Clin. Cancer Res. 3, 1167-1177 (1997), Mattar y colaboradores FEBS Lett 334, 161-164 (1993), Cherwinskyi y colaboradores, Inflamm. Res. 3, 1167-1177 (1997), y Strawn y colaboradores, Exp. Opin. Invest. Drugs 7, 533-573 (1998)); y Piridopirimidinas (ver, por ejemplo Hamby y colaboradores, J. Med. Chem. 40, 2296-2303 (1997), Dahring y colaboradores, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281, 1446-1456 (1997), Klutcho y colaboradores, Life Sci. 62, 143-150 (1998), Panek y colaboradores J. Pharmacol. Exp. Ther 283, 1433-1444 (1997), Boschelli y colaboradores, J. Med. Chem. 41, 4365-4377 (1998)). Todas las referencias mencionadas anteriormente se incorporan a la presente como referencia. Los inhibidores de cinasa de tirosina, su síntesis, y su uso, se pueden deducir de estas referencias.

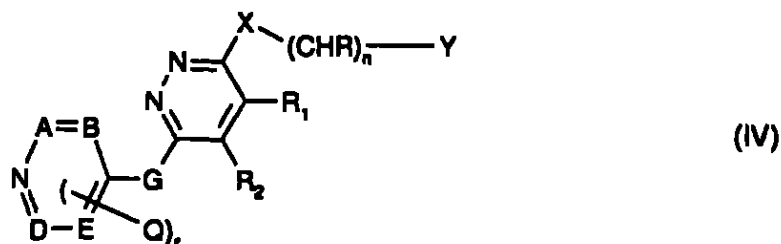
El término "y/o" utilizado en "inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit" significa que cualquiera o más de las cinasas de tirosina mencionadas es inhibida por un compuesto abarcado por esta expresión.

De preferencia, uno de los siguientes compuestos signifi-

ca, en el término de "inhibidor de cinasa de tirosina de abl,
de PDGF-R, y/o receptora de Kit":

(A) Un compuesto de la fórmula IV:

5



en donde uno o dos de los miembros de anillo T_1 , T_2 , T_3 , y T_4 son nitrógeno, y los otros en cada caso son CH, y el enlace se logra por medio de T_1 y T_4 ;

A, B, D, y E son, independientemente unos de otros, N ó
5 CH, estipulando que no más de dos de estos radicales sean N;

G es alquileo inferior, alquileo inferior sustituido por aciloxilo o hidroxilo, $-\text{CH}_2-\text{O}-$, $-\text{CH}_2-\text{S}-$, $-\text{CH}_2-\text{NH}-$, oxa ($-\text{O}-$),
tia ($-\text{S}-$), ó imino ($-\text{NH}-$);

Q es alquilo inferior, especialmente metilo;

10 R es H ó alquilo inferior;

X es imino, oxa, o tia;

Y es arilo, piridilo, o cicloalquilo insustituido o sustituido; y

Z es amino mono o disustituido, halógeno, alquilo, alquilo
15 sustituido, hidroxilo, hidroxilo eterificado o esterificado, nitro, ciano, carboxilo, carboxilo esterificado, alcanóilo, carbamoílo, carbamoílo N-mono- o N,N-disustituido, amidino, guanidino, mercapto, sulfo, tiofenilo, feniltioalquilo inferior, alquiltiofenilo, fenilsulfinilo, fenilalquilsulfinilo inferior,
20 ferior, alquilfenilsulfinilo, fenilsulfonilo, fenilalquilsulfonilo inferior, o alquilfenilsulfonilo, en donde - si está presente más de un radical Z ($m = \geq 2$) - los sustituyentes Z son iguales o diferentes unos de otros;

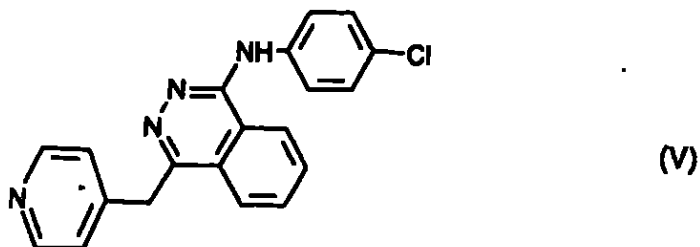
y en donde los enlaces caracterizados, si están presentes,
25 por una línea ondulada, son enlaces sencillos o dobles;

o un N-óxido del compuesto definido, en donde uno o más átomos de N llevan un átomo de oxígeno;

con la estipulación de que, si Y es piridilo o cicloalquilo insustituido, X sea imino, y los radicales restantes sean como se definen, G se seleccione a partir de un grupo que comprenda alquileno inferior, $-\text{CH}_2-\text{O}-$, $-\text{CH}_2-\text{S}-$, oxa, y tia;

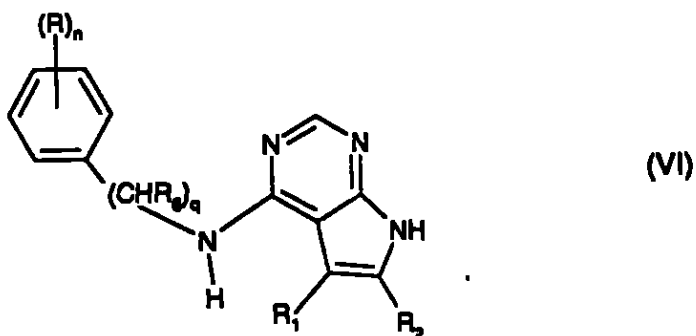
o una sal del mismo.

De preferencia, las definiciones de los sustituyentes dadas anteriormente tienen los significados, especialmente los significados preferidos, descritos en la Solicitud de Patente Internacional Número WO 91/35958. El más preferido de estos compuestos es el compuesto de la fórmula V:



con el nombre 1-(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)-ftalazina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

20 (B) un compuesto de 7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina de la fórmula VI:



en donde:

q es 0 ó 1,

n es de 1 a 3 cuando q es 0, o n es de 0 a 3 cuando q es 1,

5 R es halógeno, alquilo inferior, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, alcoxilo inferior, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior, ciano, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, o tri-
10 fluorometilo, siendo posible, cuando estén presentes varios radicales R en la molécula, que estos radicales sean idénticos o diferentes;

a) R_1 y R_2 son cada uno independientemente del otro:

a) fenilo sustituido por carbamoilmetoxilo, carboximeto-
15 xilo, benzoiloxycarbonilmetoxilo, alcoxycarbonilmetoxilo inferior, fenilo, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior,
20 ciano, o por nitro;

β) hidrógeno;

γ) piridilo insustituido o sustituido por halógeno o por alquilo inferior;

δ) N-bencilpiridinio-2-ilo; naftilo; ciano; carboxilo;
25 alcoxycarbonilo inferior; carbamoílo; N-alquilcarbamoílo infe-

rior; N,N-dialquilcarbamoílo inferior; N-bencilcarbamoílo; formilo; alcanolílo inferior; alquenílo inferior; alqueníloxilo inferior; o

ε) alquilo inferior sustituido por:

5

εα) halógeno, amino, alquilamino inferior, piperazino, dialquilamino inferior,

εβ) fenilamino que está insustituido o sustituido en la fracción de fenilo por halógeno, alquilo inferior, hidroxilo, 10 alcanoiloxilo inferior, alcoxilo inferior, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior, ciano, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, o por trifluorometilo,

15 εγ) hidroxilo, alcoxilo inferior, ciano, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior, mercapto, o

εδ) por un radical de la fórmula $R_3-S(O)_m-$ en donde R_3 es alquilo inferior, y m es 0, 1 ó 2, o

20 b) cuando q es 1, uno de los radicales R_1 y R_2 es alquilo inferior insustituido o fenilo insustituido, y el otro de los radicales R_1 y R_2 tiene uno de los significados dados anteriormente en el párrafo a), con la excepción de hidrógeno, o

c) R_1 y R_2 son juntos 1,4-alcadienileno de 4 a 10 átomos 25 de carbono sustituido por amino, alcanoilamino inferior, alqui-

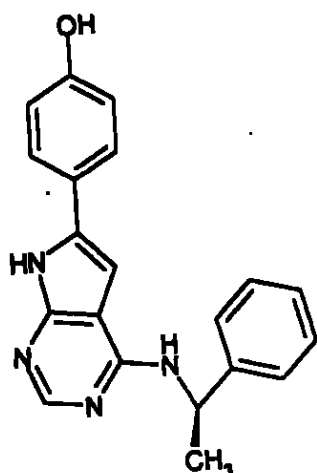
lamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, nitro, halógeno, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, carboxilo, alcoxicarbonilo inferior, carbamoilo, N-alquilcarbamoilo inferior, N,N-dialquilcarbamoilo inferior, o por ciano, o son aza-1,4-alcadienileno que tiene hasta 9 átomos de carbono, o

d) cuando q es 1, R₁ y R₂ son cada uno independientemente del otro, alquilo inferior insustituido o fenilo insustituido, o tienen uno de los significados dados anteriormente en el párrafo a), y

R₆ es hidrógeno, alquilo inferior, alcoxicarbonilo inferior, carbamoilo, N-alquilcarbamoilo inferior, o N,N-dialquilcarbamoilo inferior,

o una sal del mismo.

De preferencia, las definiciones de los sustituyentes dadas anteriormente tienen los significados, especialmente los significados preferidos, descritos en la Solicitud de Patente Internacional Número WO 97/02266. El más preferido de estos compuestos es el compuesto de la fórmula VII:

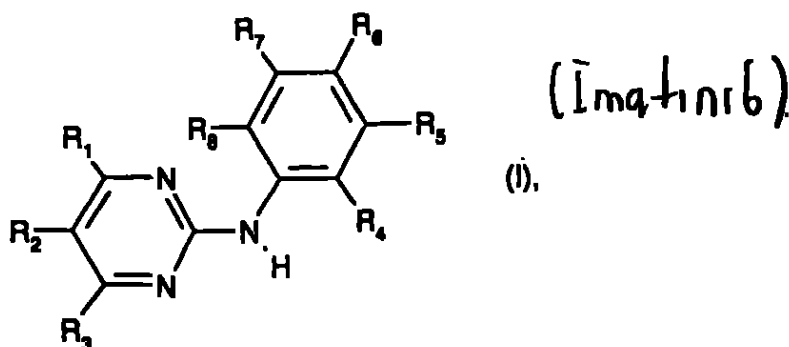


(VII).

que tiene el nombre (R)-6-(4-hidroxifeil)-4-[(1-feniletíl)-amino]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina; o más preferido:

(c) un derivado de N-fenil-2-pirimidinamida de la fórmula

I:



10

en donde:

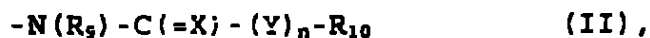
R_1 es pirazinilo, 1-metil-1H-pirrolilo, fenilo sustituido por amino o por aminoalquilo inferior, en donde el grupo amino en cada caso está libre, alquilado, o acilado, 1H-indolilo ó 1H-imidazolilo enlazado en un átomo de carbono del anillo de 5 miembros, o piridilo insustituido o sustituido por alquilo inferior enlazado en un átomo de carbono del anillo, e insustituido o sustituido en el átomo de nitrógeno por oxígeno,

15

R_2 y R_3 son cada uno independientemente del otro, hidrógeno o alquilo inferior,

20

uno o dos de los radicales R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , y R_8 son cada uno nitro, alcoxilo inferior sustituido por flúor, o un radical de la fórmula II:



25

en donde:

R_1 es hidrógeno o alquilo inferior,

X es oxo, tio, imino, N-alquilimino inferior, hidroximino, u
O-alquilhidroximino inferior,

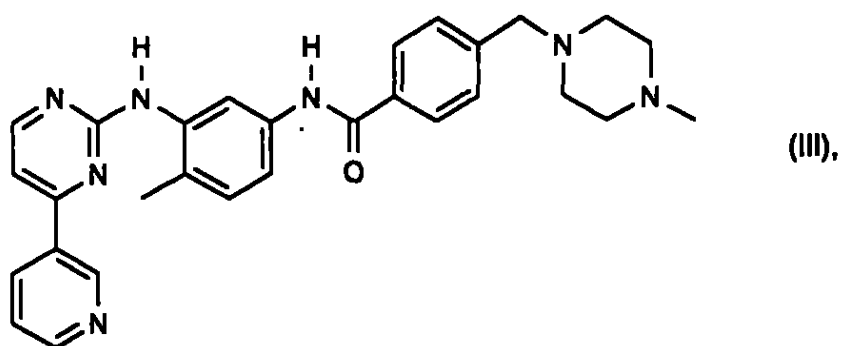
5 Y es oxígeno o el grupo NH ,

n es 0 ó 1, y

R_{10} es un radical alifático que tiene cuando menos 5 átomos
de carbono, o un radical aromático, aromático-alifático, ci-
cloalifático, cicloalifático-alifático, heterocíclico, o hete-
10 rocíclico-alifático, y los radicales restantes R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , y
 R_8 son cada uno independientemente de los otros, hidrógeno, al-
quilo inferior que está insustituido o sustituido por amino li-
bre o alquilado, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, o
por morfolinilo, o alcanofilo inferior, trifluorometilo, hidro-
15 xilo libre, eterificado o esterificado, amino libre, alquilado
o acilado, o carboxilo libre o esterificado, o

una sal de estos compuestos que tengan cuando menos un
grupo formador de sal.

De preferencia, las definiciones de los sustituyentes da-
20 das anteriormente tienen los significados, especialmente los
significados preferidos, descritos en la Solicitud de Patente
Europea Número EP 0,564,409. El más preferido de estos com-
puesto es el compuesto de la fórmula III:



5

con el nombre 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino)fenil]benzamida, de preferencia en la forma de la sal de metansulfonato, como se describe en la Publicación Internacional Número WO 99/03854, más preferiblemente en la forma de la sal de metansulfonato en la forma del cristal- β , como se describe en la Publicación Internacional Número WO 99/03854. Este compuesto (la forma de la sal de metansulfonato) se denomina como STI571 posteriormente en la presente.

15

Un "compuesto orgánico capaz de enlazarse con una glicoproteína ácida- α_1 (AGP)", es en general un fármaco básico o neutro, pero también un fármaco ácido, especialmente seleccionado a partir del grupo que consiste en:

20

bloqueadores-alfa, especialmente Nicergolina o Prazosina;
anestésicos/analgésicos, especialmente Alfentanil, Cetamina, o Etidocaína;

analgésicos, especialmente Fentanil, Meperidina, Metadona, o Fenilbutazona;

25

anestésicos, especialmente Bupivacaína, Etidocaína, o Fen-

ciclidina;

anestésicos/antiarrítmicos, especialmente Lidocaína o Fen-
ciclidina;

antiarrítmicos, especialmente Aprindina, Disopiramida,
5 Quinidina, o Verapamil;

antibióticos, especialmente Eritromicina;

anticuagulantes, especialmente Acenocumarol, Dipyridamol,
PCR2362 (derivado de tienopiridina), Ticlopidina, o Warfarina;

antiepilépticos, especialmente Fenitoína, o Carbamazepina;
10 agentes antiinflamatorios, especialmente Naproxeno;

bloqueadores-beta, especialmente Alprenolol, Metoprolol,
Oxprenolol, Pindolol, y compuestos relacionados, Propranolol, o
Timolol;

esteroides, tales como Progesterona, Cortexona, Cortisol,
15 Testosterona, Estradiol, o Prednisolona;

bloqueadores neuromusculares, especialmente Metocurina o
d-Tubocurarina;

psicotrópicos, especialmente Amitriptilina, Clorpromazina,
Ciclazindol, Desmetilimipramina, Diazepam, Doxepina, Fluraze-
20 pam, Flufenazina, Haloperidol, Imipramina, Loxapina, Mianseri-
na, Nortriptilina, Norzimelidina, Perazina, Perfenazina, Feno-
barbital, Derivados de Fenotiazina, Promazina, Acepromazina,
Protipendilo, Tioridazina, Tiotixeno, Triazolam, Trifluoperazi-
na, o Zimelidina;

25 vitaminas y provitaminas, especialmente Vitamina B₁₂ ó áci-

do fóllico;

sondas fluorescentes, especialmente DAPN (derivado de propranolol), 1,8-Anilino-naftalensulfonato;

fármacos adicionales, especialmente Aminopirina, Amoxapina, Bupropión, Maprolitina, Nomifensina, Trazodona, fármacos
5 con grupo amonio cuaternario, Ritodrina, Doxazosina, Trimazosina, Binedalina, Amsacrina, Apazona, SKF 525A, Ciclazindol, PCR 2362, Indometacina, Probenecida, Acido Retinoico, Sulfinpirazona, Tolmetina, Benoxaprofeno, Heparina, Sufentanil, Lofentanil,
10 Metoclopramida, Nicardipina, Pirmenol, mifepristona, RU 42 633, Aprindil, Auramina, O, Bepridil, Desipramina, Desmetilclomipraína, Moxaprindina, Quinina, Lorcainida, Protipendilo, Protriptilina, Trihexifenidilo, Biperideno, Matacualona, Difenhidramina, Glutetimida, Clordiazepóxido, L-triptófano, Mepivacaína,
15 na, Levometadona, Opipramol, Trifluopromazina, o Trimipramina;

plastificantes, tales como fosfato de tris-butoxiétilo (TBEP);

estaurosporina (ver la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,107,297) o derivados estaurosporina, de preferencia aquéllos dados a conocer en las Solicitudes de Patente
20 Europeas Números EP 0,296,110 y/o EP 0,238,011, especialmente N-benzoil-estaurosporina (PTK412 - ver la Solicitud de Patente Europea Número EP 0,296,110), ó 7-hidroxi-estaurosporina (UCN-01 - ver la Solicitud de Patente europea Número EP 0,238,011);

25 así como un metabolito de cualquiera de estos compuestos;

o una sal - especialmente farmacéuticamente aceptable - de los mismos.

Las Patentes Números EP 0,238,011; US 4,107,297 y EP 0,296,110 se incorporan como referencia, así como las siguientes publicaciones: Kremer y colaboradores, Pharmacol. Rev. 40(1), 1-47 (1988); Cancer Res. 58, 3248-3253 (1998); Br. J. Clin. Pharmacol 22, 499-506 (1986); Physiol. Functions, and Pharmacol., páginas 321-336; F. Bree y colaboradores, "Binding to α_1 -acidic glycoprotein and relevant apparent volume of distribution", Alan R. Liss Inc., 1989; Protein Binding and Drug Transport (Tillement y Lindenlaub, editores): "Drug binding to human α_1 -acidic glycoprotein - focus on a single binding site", Stuttgart 1986. En todas estas publicaciones, se mencionan compuestos capaces de enlazarse con AGP, que son las modalidades preferidas de la presente invención.

Se prefiere más cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente diferentes de un esteroide. Para un segundo uso médico (por ejemplo, en los grupos de pacientes en donde se haya desarrollado resistencia, más especialmente pacientes de CML en crisis y pacientes de Ph+-ALL reincidentes), también los esteroides son útiles.

Un compuesto orgánico capaz de enlazarse con AGP, para utilizarse en la combinación de acuerdo con la invención, en adición a una cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, o receptora de Kit, también se puede seleccionar a partir de una o más ci-

nasas de tirosina de abl, de PDGF-R, o receptora de Kit adicionales, significando que el componente (b) en las modalidades de la invención, también puede ser uno de estos compuestos.

De preferencia, la cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit (componente (a)), se selecciona a partir del grupo que consiste en 1-(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)-ftalazina, (R)-6-(4-hidroxifeil)-4-[(1-fenil-etil)-amino]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina, y de preferencia 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]-benzamida; o una sal de las mismas; más preferiblemente, la sal de metansulfonato de 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]-benzamida, más preferible en la forma del cristal- β , como se describe en la Publicación Internacional Número WO 99/03854.

El compuesto orgánico capaz de enlazarse con la glicoproteína ácido- α_1 (componente (b)), de preferencia es un antibiótico, especialmente eritromicina, o estaurosporina o un derivado de estaurosporina, especialmente N-benzoil-estaurosporina (PKC412) ó 7-hidroxi-estaurosporina (UCN-01), o una sal de las mismas, más especialmente eritromicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Se puede utilizar uno o más de cada uno de los inhibidores de cinasa de tirosina y el compuesto orgánico capaz de enlazarse con AGP, en una combinación o en una terapia de combinación,

de acuerdo con la presente invención.

Enlace significa especialmente un enlace competitivo, pero también puede ser cualquier otro tipo de enlace (por ejemplo, para sitios de enlace que muestren efectos aloestéricos sobre el componente de enlace del sitio (a)) que conduzca a un enlace reducido de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R-, y/o receptora de Kit con AGP. Este enlace se puede determinar *in vitro* en analogía a los métodos descritos en los ejemplos que se encuentran más adelante en la presente.

El enlace puede ser irreversible (por ejemplo, mediante enlace covalente o iónico), o de preferencia reversible.

"Capaz de enlazarse" significa que el compuesto tiene afinidad con AGP, que permite el enlace como se describió anteriormente, de preferencia con una concentración en un enlace medio-máximo en el rango milimolar a sub-nanomolar, especialmente en el rango de 100 μ M a 1 nM.

El término "una enfermedad proliferativa que pueda ser tratada mediante la administración de una cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit", para cualquier enfermedad mencionada en la presente, significa: de preferencia cualquier enfermedad que responda a estos compuestos; especialmente una enfermedad proliferativa seleccionada a partir de una enfermedad de cáncer, especialmente una enfermedad tumoral o leucemia, o una enfermedad proliferativa no maligna, por ejemplo aterosclerosis, trombosis, psoriasis, esclerodermatitis, o fi-

bro sis. De una manera más preferible, significa una enfermedad seleccionada a partir del grupo que consiste en CML (leucemia mieloide crónica) y ALL (leucemia linfoblástica aguda), o un tumor sólido, especialmente seleccionado a partir de cáncer de pulmón, especialmente cáncer de pulmón que no es de células pequeñas, y a partir de cáncer de la próstata.

El término "cantidad que es conjuntamente efectiva terapéuticamente contra una enfermedad proliferativa que pueda ser tratada mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R y/o receptora de Kit", de preferencia significa cualquier cantidad de los componentes de las combinaciones que, en la combinación, reduzca la proliferación de las células responsables de cualquiera de las enfermedades proliferativas mencionadas (por ejemplo, crecimiento tumoral reducido), o de preferencia, inclusive que ocasione una regresión, más preferiblemente inclusive la desaparición parcial o completa, de estas células (por ejemplo, regresión de tumor, de preferencia cura).

De preferencia, en cualquiera de las modalidades de la presente invención, la dosis de cada uno de los componentes de la combinación (componentes (a) y (b)) se selecciona de tal manera que se alcance un nivel en plasma sanguíneo que esté arriba de la concentración del enlace medio-máximo del componente (b), el compuesto orgánico capaz de enlazarse con AGP, *in vivo*, cuando menos una parte del tiempo en que esté presente el com- : .i

ponente (a), el inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit. Esta concentración se puede determinar, por ejemplo, *in vitro*, de acuerdo con los procedimientos convencionales, por ejemplo en analogía a los métodos descritos en los ejemplos para la determinación de K_a , mientras que la concentración en plasma sanguíneo de los componentes (a) y (b) en un animal de sangre caliente (significando especialmente un paciente humano) también se puede determinar de acuerdo con los métodos de rutina.

De preferencia, la dosificación del componente (b) se selecciona de tal manera que la concentración del componente (b) sea mayor de $0.05 \mu\text{M}$, en plasma, más preferiblemente mayor de $0.1 \mu\text{M}$, y muy preferiblemente entre 0.5 y $100 \mu\text{M}$, especialmente entre 1 y $50 \mu\text{M}$, del individuo tratado, cuando menos parte del tiempo en que también esté presente el componente (a). Más preferiblemente, la concentración de cualquiera de los componentes (a) y (b) es mayor de $0.1 \mu\text{M}$, más preferiblemente mayor de $1 \mu\text{M}$, y muy preferiblemente entre 0.5 y $100 \mu\text{M}$, especialmente entre 1 y $50 \mu\text{M}$, en el plasma sanguíneo del individuo tratado, cuando menos parte del tiempo en que también esté presente el componente (a) ó el componente (b), respectivamente.

Las concentraciones en plasma se puede determinar de acuerdo con los métodos convencionales, por ejemplo empleando HPLC de muestras procesadas de acuerdo con los procedimientos convencionales.

El término "un producto que comprende:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

(b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse
5 con glicoproteína ácida- α_1 (AGP),

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,

en la presencia o en ausencia de uno o más materiales de
10 vehículo farmacéuticamente aceptables, como una preparación en combinación para su uso simultáneo o cronológicamente escalonado dentro de un período de tiempo que sea suficientemente pequeño para que los compuestos de tanto el componente (a) como del componente (b), mejoren la actividad antiproliferativa del
15 compuesto (a) contra las células proliferantes, especialmente en un paciente, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que responda a este compuesto", significa especialmente un "estuche" o "estuche de partes" en el sentido de que los componentes efectivos (a) y (b) de la combinación, se puedan
20 dosificar de manera independiente, o mediante el uso de combinaciones fijas diferentes con cantidades distinguidas de cualquiera de los componentes (a) y (b) en diferentes puntos del tiempo. Las partes del estuche de partes se pueden entonces administrar de una manera simultánea, o de una manera cronológicamente escalonada, es decir, en diferentes puntos del tiempo.
25

po, y con intervalos de tiempo iguales o diferentes para cualquier parte del estuche de partes, con la condición de que los intervalos de tiempo se seleccionen de tal manera que el efecto sobre la enfermedad proliferativa en el uso combinado de las partes sea mayor que el efecto que se obtendría mediante el uso de solamente el componente (a), es decir, una inhibición más fuerte de la proliferación, o de preferencia, una regresión más fuerte o inclusive la cura de la enfermedad proliferativa, que cuando se administre solamente la misma dosis de un solo componente (a). Esto es lo que significa el término "para mejorar la actividad antiproliferativa contra células proliferantes, especialmente en un paciente"; de preferencia; esto significa una mejora del efecto mediante el componente (b), especialmente una reversión parcial o completa de la resistencia de una enfermedad proliferativa a uno o más compuestos del tipo del componente (a), y/o que ocasione la regresión de las células proliferantes, hasta e incluyendo su destrucción completa.

El término "células proliferantes", de preferencia significa las células que se proliferan de una manera anormal, tales como las células de cáncer.

Se prefieren las combinaciones que muestren una mejor actividad antiproliferativa, al compararse con el único componente (a) solo, especialmente combinaciones que muestren sinergismo (combinaciones sinérgicas), o combinaciones que conduzcan a la regresión de los tejidos proliferativos y/o a la cura de las

enfermedades proliferativas, más preferiblemente combinaciones en donde se supere parcial o completamente la resistencia (significando la resistencia ya al principio del tratamiento, o la resistencia que sea un resultado de períodos más o menos prolongados de tratamiento con el componente (a)) de una enfermedad proliferativa en un animal de sangre caliente, especialmente un ser humano, a uno o más compuestos del tipo de componente (a).

Los "materiales de vehículo farmacéuticamente aceptables" se explica más adelante en la definición de las preparaciones farmacéuticas.

En cualquier combinación o tratamiento de combinación de acuerdo con la invención descrita en la presente, el uso en combinación con el objeto de revertir completa o parcialmente la resistencia (presente antes del tratamiento, o desarrollada o en desarrollo durante el tratamiento con un fármaco que comprenda un componente (a) como se describe en la presente) de una enfermedad proliferativa al tratamiento con un fármaco que comprenda un componente (a) como se define en la presente in vivo, especialmente en un animal de sangre caliente, especialmente un ser humano, es el preferido.

Una resistencia completa o parcial significa especialmente que se encuentra una eficiencia más baja, por ejemplo en términos de detener o demorar la proliferación, ocasionar la regresión o inclusive la cura, por ejemplo, menos inhibición de prolifera-

ción, o una duración más larga del tratamiento hasta que se encuentre una respuesta esperada si ya no está presente la resistencia, por ejemplo de un tumor o leucemia, que en un animal, por ejemplo, un ser humano, que no muestre resistencia, o que ya no se encuentren los éxitos de tratamiento iniciales (especialmente en un paciente que desarrolle resistencia solamente durante el tratamiento con un componente (a)) en las etapas posteriores del tratamiento, especialmente en pacientes de CML con crisis, y en los pacientes de Ph+-ALL reincidentes.

10 Se debe entender que la invención se refiere también a cualquier uso de combinaciones de un componente (a) y un componente (b), como se definen anteriormente y más adelante, en un método para inhibir la hiperproliferación de células, el cual comprende poner en contacto las células hiperproliferantes con
15 una preparación o producto farmacéutico en el sentido de un estuche de partes, especialmente un método para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, el cual comprende poner en contacto a un sujeto, a las células, a los tejidos, o a un fluido corporal de este sujeto, del que se sospeche que tenga una enfermedad hiperproliferativa. Esto incluye especialmente el
20 tratamiento de, por ejemplo, células afuera del cuerpo, con la intención de reemplazar las células hiperproliferantes en el cuerpo de un sujeto con células hiperproliferantes, por células normales; por ejemplo, se pueden tomar sangre con células del
25 sistema inmune de un sujeto, se pueden tratar afuera del cuerpo

con un componente (a) y un componente (b) para seleccionar las células no hiperproliferativas, se pueden destruir las células de tallo y las células sanguíneas restantes del sistema inmune en el sujeto, por ejemplo, mediante irradiación o quimioterapia, y luego se pueden reimplantar las células normales seleccionadas en el sujeto, por ejemplo mediante inyección, etcétera. Los métodos que se van a emplear en estas clases de tratamiento son conocidos por la persona que tenga experiencia en la materia.

10 Cualquiera de las referencias mencionadas en esta memoria descriptiva, se incorpora como referencia, especialmente los pasajes marcados como preferidos en la presente.

En el entendido de que estén presentes uno o más grupos formadores de sal, también pueden estar presentes las sustancias de fármaco correspondientes a los componentes (a) y/o (b) en la forma de sales.

Las sales son especialmente las sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo sustancialmente no tóxicas.

Estas sales se forman, por ejemplo, a partir de compuestos que tengan un grupo ácido, por ejemplo un grupo carboxilo, fosfodiéster, o fosforotiato, y son, por ejemplo, sus sales con bases adecuadas, tales como sales de metal no tóxicas derivadas a partir de metales de los grupos Ia, Ib, Iia, y Iib de la Tabla Periódica de los Elementos, especialmente las sales de metales alcalinos adecuadas, por ejemplo las sales de litio, so-

dio, o potasio, o las sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo las sales de magnesio o calcio, además las sales de zinc o amonio, también las sales que se forman con aminas orgánicas, tales como mono-, di-, o tri-alquilaminas insustituidas
5 o sustituidas por hidroxilo, especialmente mono-, di-, o tri-alquilaminas inferiores, o con compuestos de amonio cuaternario, por ejemplo con N-metil-N-etilamina, dietilamina, trietilamina, mono-, bis-, o tris-(2-hidroxialquilo inferior)amina, tales como mono-, bis-, o tris-(2-hidroxietil)amina, 2-
10 hidroxihidroxiterbutilamina, o tris(hidroximetil)metilamina, N,N-dialquilo inferior-N-(hidroxialquilo inferior)-aminas, tales como N,N-dimetil-N-(2-hidroxietil)-amina o tri-(2-hidroxietil)-amina, o N-metil-D-glucamina, o sales de amonio cuaternario, tales como sales de tetrabutilamonio. Los compues-
15 tos que tengan un grupo básico, por ejemplo un grupo amino o imino, pueden formar sales de adición de ácido, por ejemplo con ácidos inorgánicos, por ejemplo un ácido halohídrico, tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, o ácido fosfórico, o con ácidos carboxílicos orgánicos, sulfónicos, sulfo, o fosfo, o
20 ácidos sulfámicos N-sustituidos, tales como, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido fumárico, ácido málico, ácido tartárico, ácido glucónico, ácido glucárico, ácido glucurónico, ácido cítrico, ácido benzoico,
25 ácido cinámico, ácido mandélico, ácido salicílico, ácido 4-

aminosalicílico, ácido 2-fenoxibenzoico, ácido 2-acetoxibenzoico, ácido embónico, ácido nicotínico, o ácido isonicotínico, también con aminoácidos, por ejemplo α -aminoácidos, y también con ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido 2-hidroxietansulfónico, ácido etan-1,2-disulfónico, ácido bencensulfónico, ácido 4-metilbencensulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico, 2- ó 3-fosfoglicerato, glucosa-6-fosfato, ácido N-ciclohexilsulfámico (con la formación de los ciclamatos), o con otros compuestos orgánicos ácidos, tales como ácido ascórbico.

Los compuestos que tengan grupos ácidos o básicos también pueden formar sales internas. Si está presente más de un grupo formador de sal, también es posible que estén presentes sales mixtas.

Para el propósito de aislamiento o purificación, también es posible utilizar sales farmacéuticamente inaceptables, por ejemplo sales de picrato o perclorato.

Los términos "compuestos", "componentes", y "sales", también incluyen expresamente los compuestos individuales o las sales individuales.

Como se puede entender a partir del presente texto, el término "combinación" en los párrafos anteriores, y especialmente en los párrafos siguientes, que describen variantes más específicas y preferidas de la presente invención, se pretende referir a:

(i) una preparación en combinación que comprende: (a)

cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y (b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 (AGP), o sales farmacéuticamente aceptables de cualquier componente (a),
5 (b), o (a) y (b), si está presente cuando menos un grupo formador de sal;

(ii) un método para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que pueda ser tratada mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, en donde (a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y
10

(b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácido- α_1 (AGP),

se administran a un mamífero en combinación con una cantidad que sea conjuntamente efectiva terapéuticamente contra una enfermedad proliferativa que se pueda tratar mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal
15
20 farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal;

(iii) un producto que comprende:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

25 (b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse

con glicoproteína ácida- α_1 (AGP),

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,

5 en la presencia o en ausencia de uno o más materiales de vehículo farmacéuticamente aceptables, como una preparación en combinación para su uso simultáneo o cronológicamente escalonado dentro de un período de tiempo que sea suficientemente pequeño para que los compuestos de tanto el componente (a) como
10 del componente (b), mejoren la actividad antiproliferativa del compuesto (a) contra las células proliferantes, especialmente en un paciente, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que responda a este compuesto.

(iv) una preparación farmacéutica que comprende una cantidad,
15 que es conjuntamente efectiva para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que se pueda tratar mediante la administración de inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, de:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de
20 abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

(b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 ,

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,
25

con uno o más materiales de vehículo farmacéuticamente aceptables; y/o

v) el uso de una combinación de:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

(b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 ,

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,

para producir preparaciones farmacéuticas para utilizarse como composiciones contra una enfermedad proliferativa que pueda ser tratada mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit;

o cualquier combinación de estos objetos de la invención, hasta donde sea permisible bajo las leyes de patente respectivas;

o las variantes más específicas y preferidas de las mismas, como se dan más adelante;

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal;

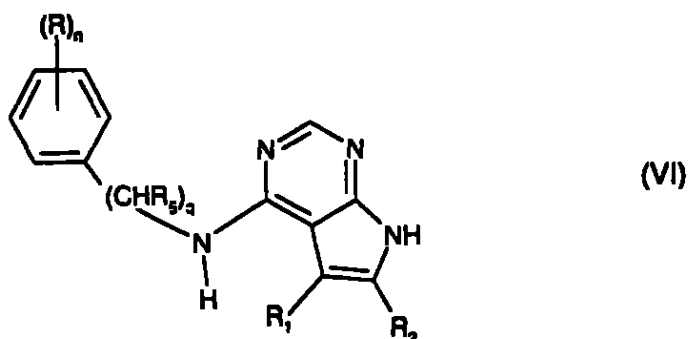
si no se define de otra manera o es evidente de otra manera a partir del contexto.

dentro de los siguientes grupos de modalidades más prefe-

ridas de la invención, las definiciones más generales pueden ser reemplazadas por definiciones más específicas de acuerdo con las dadas anteriormente, o (especialmente con respecto a la definición de composiciones farmacéuticas y métodos de uso) más adelante.

Se prefiere una combinación de (a) cuando menos uno, y de preferencia un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit, seleccionado a partir de:

(i) un compuesto de 7H-pirrólo[2,3-d]pirimidina de la fórmula VI:



en donde:

q es 0 ó 1,

n es de 1 a 3 cuando q es 0, o n es de 0 a 3 cuando q es 1,

R es halógeno, alquilo inferior, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, alcoxilo inferior, carboxilo, alcoxicarbonilo inferior, carbamoilo, N-alquilcarbamoilo inferior, N,N-dialquilcarbamoilo inferior, ciano, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, o trifluorometilo, siendo posible, cuando estén presentes varios ra-

dicales R en la molécula, que estos radicales sean idénticos o diferentes;

a) R_1 y R_2 son cada uno independientemente del otro:

5 α) fenilo sustituido por carbamoilmetoxilo, carboximeto-
xilo, benzoiloxicarbonilmetoxilo, alcoxicarbonilmetoxilo infe-
rior, fenilo, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino infe-
rior, N,N-dialquilamino inferior, hidroxilo, alcanoiloxilo in-
ferior, carboxilo, alcoxicarbonilo inferior, carbamoílo, N-
alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior,
10 ciano, o por nitro;

β) hidrógeno;

γ) piridilo insustituido o sustituido por halógeno o por
alquilo inferior;

15 δ) N-bencilpiridinio-2-ilo; naftilo; ciano; carboxilo;
alcoxicarbonilo inferior; carbamoílo; N-alquilcarbamoílo infe-
rior; N,N-dialquilcarbamoílo inferior; N-bencilcarbamoílo; for-
milo; alcanoflo inferior; alquenilo inferior; alqueniloxilo in-
ferior; o

ϵ) alquilo inferior sustituido por:

20

$\epsilon\alpha$) halógeno, amino, alquilamino inferior, piperazino,
dialquilamino inferior,

25 $\epsilon\beta$) fenilamino que está insustituido o sustituido en la
fracción de fenilo por halógeno, alquilo inferior, hidroxilo,
alcanoiloxilo inferior, alcoxilo inferior, carboxilo; alcoxí-

carbonilo inferior, carbamoíl , N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior, ciano, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, o por trifluorometilo,

5 εγ) hidroxilo, alcóxilo inferior, ciano, carboxilo, alcóxicarbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior, mercapto, o

 εδ) por un radical de la fórmula $R_3-S(O)_m-$ en donde R_3 es alquilo inferior, y m es 0, 1 ó 2, o

10 b) cuando q es 1, uno de los radicales R_1 y R_2 es alquilo inferior insustituido o fenilo insustituido, y el otro de los radicales R_1 y R_2 tiene uno de los significados dados anteriormente en el párrafo a), con la excepción de hidrógeno, o

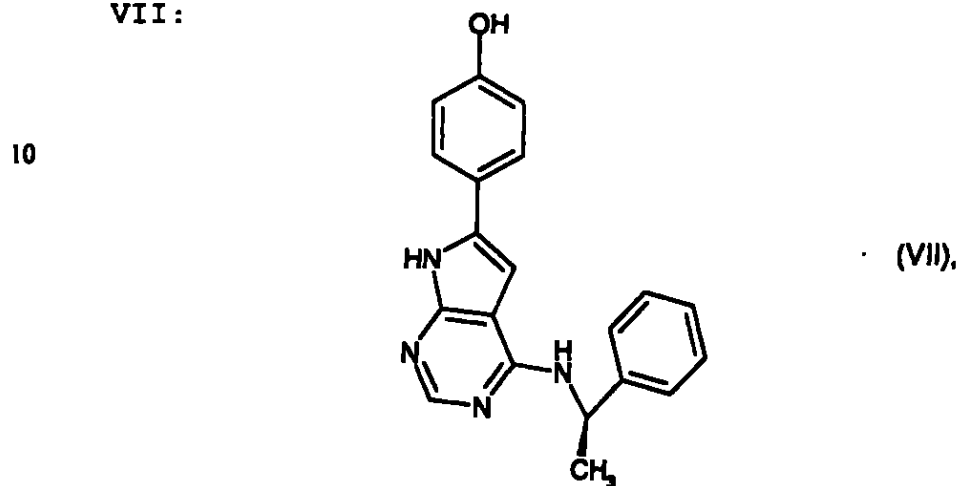
 c) R_1 y R_2 son juntos 1,4-alcadienileno de 4 a 10 átomos
15 de carbono sustituido por amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, nitro, halógeno, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, carboxilo, alcóxicarbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior, o por ciano, o son aza-1,4-
20 alcadienileno que tiene hasta 9 átomos de carbono, o

 d) cuando q es 1, R_1 y R_2 son cada uno independientemente del otro, alquilo inferior insustituido o fenilo insustituido, o tienen uno de los significados dados anteriormente en el párrafo a), y

25 R_6 es hidrógeno, alquilo inferior, alcóxicarbonilo inferior,

carbamoilo, N-alkilcarbamoilo inferior, o N,N-dialquilcarbamoilo inferior,

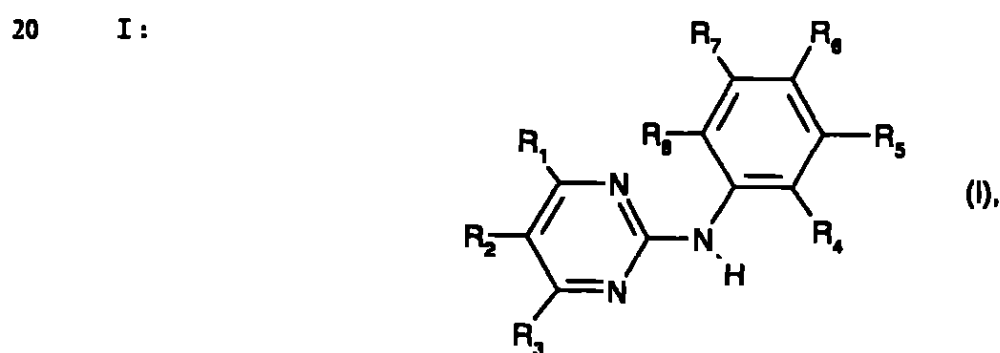
o una sal del mismo (de preferencia, las definiciones de los sustituyentes dadas anteriormente tienen los significados, especialmente los significados preferidos, descritos en la Solicitud de Patente Internacional Número WO 97/02266 - el más preferido de estos compuestos es el compuesto de la fórmula VII:



que tiene el nombre (R)-6-(4-hidroxifenil)-4-[(1-feniletíl)-amino]-7H-pirrólo[2,3-d]pirimidina);

y

(ii) un derivado de N-fenil-2-pirimidinamina de la fórmula

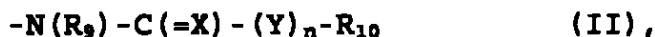


en donde:

R_1 es pirazinilo, 1-metil-1H-pirrolilo, fenilo sustituido
 5 por amino o por aminoalquilo inferior, en donde el grupo amino
 en cada caso está libre, alquilado, o acilado, 1H-indolilo ó
 1H-imidazolilo enlazado en un átomo de carbono del anillo de 5
 miembros, o piridilo insustituido o sustituido por alquilo in-
 ferior enlazado en un átomo de carbono del anillo, e insusti-
 10 tuido o sustituido en el átomo de nitrógeno por oxígeno,

R_2 y R_3 son cada uno independientemente del otro, hidrógeno
 o alquilo inferior,

uno o dos de los radicales R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , y R_8 son cada uno
 nitro, alcoxilo inferior sustituido por flúor, o un radical de
 15 la fórmula II:



en donde:

R_9 es hidrógeno o alquilo inferior,

20 X es oxo, tio, imino, N-alquilimino inferior, hidroximino,
 u O-alquilhidroximino inferior,

Y es oxígeno o el grupo NH,

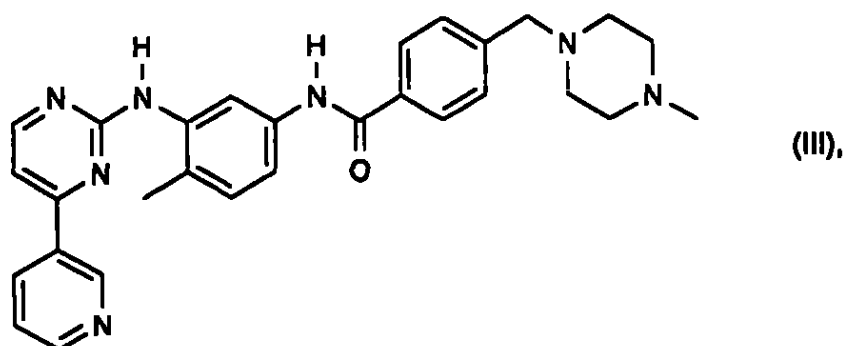
n es 0 ó 1, y

R_{10} es un radical alifático que tiene cuando menos 5 átomos
 25 de carbono, o un radical aromático, aromático-alifático, ci-

cicloalifático, cicloalifático-alifático, heterocíclico, o heterocíclico-alifático, y los radicales restantes R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , y R_8 son cada uno independientemente de los otros, hidrógeno, alquilo inferior que está insustituido o sustituido por amino libre o alquilado, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, o por morfolinilo, o alcanofilo inferior, trifluorometilo, hidroxilo libre, eterificado o esterificado, amino libre, alquilado o acilado, o carboxilo libre o esterificado, o

una sal de estos compuestos que tengan cuando menos un grupo formador de sal (de preferencia, las definiciones de los sustituyentes dadas anteriormente tienen los significados, especialmente los significados preferidos, descritos en la Solicitud de Patente Europea Número EP 0,564,409. El más preferido de estos compuestos es el compuesto de la fórmula III:

15



20

con el nombre de 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]benzamida, de preferencia en la forma de la sal de metansulfonato, como se describe en la Publicación Internacional Número WO 99/03854,

25

más preferiblemente en la forma de la sal de metansulfonato en la forma del cristal- β como se describe en la Publicación Internacional Número WO 99/03854;

con (b) cuando menos un (de preferencia uno) compuesto orgánico capaz de enlazarse con la glicoproteína ácida- α_1 (AGP),
5 seleccionado a partir del grupo que consiste en:

Nicergolina, Prazosina, Alfentanil, Cetamina, Etidocaína, Fentanil, Meperidina, Metadona, Fenilbutazona, Bupivacaína, Etidocaína, Fenciclidina, Lidocaína, Fenciclidina, Aprindina,
10 Disopiramida, Quinidina, Verapamil, Eritromicina, Acenocumarol, Dipyridamol, PCR2362, Ticlopidina, Warfarina, Fenitoína, Carbamazepina, Naproxeno, Alprenolol, Metoprolol, Oxprenolol, Pindolol, Propranolol, Timolol, Progesterona, Cortexona, Cortisol, Testosterona, Estradiol, Prednisolona, Metocurina, d-
15 Tubocurarina, Amitriptilina, Clorpromazina, Ciclazindol, Desmetilimipramina, Diazepam, Doxepina, Flurazepam, Flufenazina, Haloperidol, Imipramina, Loxapina, Mianserina, Nortriptilina, Norzimelidina, Perazina, Perfenazina, Fenobarbital, Derivados de Fenotiazina, Promazina, Acepromazina, Protipendilo, Tioridazina, Tiotixeno, Triazolam, Trifluoperazina, Zimelidina, vitamina B₁₂ ácido fólico, DAPN, 1,8-Anilino-naftalensulfonato; Aminopirina, Amoxapina, Bupropión, Maprolitina, Nomifensina, Trazodona, Ritodrina, Doxazosina, Trimazosina, Binedalina, Amsacrina, Apazona, SKF 525A, Ciclazindol, PCR 2362, Indometacina,
20 Probenecida, Acido Retinoico, Sulfinpirazona, Tolmetina,

Benoxaprofeno, Heparina, Sufentanil, Lofentanil, Metocloprami-
da, Nicardipina, Pirmenol, mifepristona, RU 42 633, Aprindil,
Auramina O, Bepridil, Desipramina, Desmetilclomiprafina, Moxa-
prindina, Quinina, Lorcainida, Protipendilo, Protriptilina,
5 Trihexifenidilo, Biperideno, Matacualona, Difenhidramina, Glu-
tetimida, Clordiazepóxido, L-triptófano, Mepivacaína, Levometa-
dona, Opipramol, Trifluopromazina, Trimipramina, Fosfato de
tris-butoxietilo, estaurosporina, N-benzoil-estaurosporina, y
7-hidroxi-estaurosporina;

10 así como un metabolito de cualquiera de estos compuestos;
en donde cualquier componente (a) y/o (b) de preferencia
puede estar presente en la forma libre o en la forma de una sal
farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un
grupo formador de sal.

15 Se prefiere más una combinación de: (a) cuando menos uno,
de preferencia un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, re-
ceptora de PDGF, y/o receptora de Kit, seleccionado a partir
del grupo que consiste en 1-(4-cloroanilino)-4-(4-
piridilmetil)-ftalazina, (R)-6-(4-hidroxifeil)-4-[(1-fenil-
20 etil)-amino]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina, y de preferencia 4-
(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pi-
rimidin-2-ilamino)fenil]-benzamida; o una sal farmacéuticamente
aceptable de cualquiera o más de estos compuestos; más preferi-
blemente la sal de metansulfonato de 4-(4-metilpiperazin-1-
25 ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino)fe-

nil]benzamida, más preferiblemente en la forma del cristal- β ; con

(b) cuando menos uno, de preferencia un compuesto capaz de enlazarse con glicoproteína ácido α_1 , que de preferencia sea un antibiótico, especialmente eritromicina, o estaurosporina o un derivado de estaurosporina, especialmente N-benzoil-estaurosporina o 7-hidroxi-estaurosporina, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, más especialmente eritromicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

De una manera más preferible, en todas las modalidades mencionadas anteriormente, la enfermedad que se va a tratar es una enfermedad de cáncer, especialmente una leucemia o un tumor sólido, de preferencia una enfermedad seleccionada a partir del grupo que consiste en CML (leucemia mieloide crónica), y ALL (leucemia linfoblástica aguda), o un tumor sólido, especialmente seleccionado a partir de cáncer de pulmón, especialmente cáncer de pulmón que no sea de células pequeñas, y a partir de cáncer de la próstata.

De preferencia, se utiliza una combinación de acuerdo con la presente invención en el tratamiento de un animal de sangre caliente, especialmente un ser humano, que tenga una enfermedad proliferativa que (especialmente debido a niveles de AGP más altos que los normales) sea, o durante el tratamiento con un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R y/o receptora de Kit, esté llegando a ser, o haya llegado a ser, completa o

parcialmente resistente a este tratamiento, tales como animales de sangre caliente que representen un grupo especial de sujetos a prueba.

En otra modalidad preferida de la presente invención, la combinación se utiliza dirigida a un animal de sangre caliente, especialmente un ser humano, con el objeto de evitar ya profilácticamente el surgimiento de una resistencia parcial o completa durante el tratamiento de una enfermedad proliferativa con un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit.

Composiciones Farmacéuticas (=Preparaciones), y Procesos:

Cuando se mencione el siguiente "componente (a) y/o (b)", pretende significar cualquiera o más de los compuestos definidos anteriormente como el componente (a) y el componente (b) como tales, o una sal farmacéuticamente aceptable de uno o más de los componentes respectivos.

Las composiciones farmacéuticas pueden encontrar uso en una combinación de acuerdo con la invención que comprenda cualquiera o más de los componentes (a) y (b), con las propiedades de acuerdo con la invención, como ingrediente activo. Las combinaciones se pueden utilizar solas (por ejemplo, como una combinación fija), o como estuches de partes. Se prefieren especialmente las composiciones para administración enteral, especialmente oral, o parenteral. Las composiciones comprenden uno

o más de los componentes (a) y (b), o combinaciones de los mismos como tales, o de preferencia junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. La dosis de cualquier ingrediente activo depende de la enfermedad que se vaya a tratar y de la especie, edad, peso, y condición individual, así como del método de administración.

Se prefiere una composición farmacéutica o una combinación que sea adecuada para administrarse a un animal de sangre caliente, especialmente un ser humano, que sufra de cualquier enfermedad mencionada en la presente; de preferencia, cualquier enfermedad significa que responda a un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit; especialmente una enfermedad proliferativa seleccionada a partir de una enfermedad de cáncer, especialmente una enfermedad tumoral o leucemia, o una enfermedad proliferativa no maligna, por ejemplo aterosclerosis, trombosis, psoriasis, esclerodermatitis, o fibrosis; de una manera más preferible, significa una enfermedad seleccionada a partir del grupo que consiste en CML (leucemia mieloide crónica) y ALL (leucemia lifoblástica aguda), o un tumor sólido, especialmente seleccionado a partir de cáncer de pulmón, especialmente cáncer de pulmón que no sea de células pequeñas, y de cáncer de la próstata; más preferiblemente, significa cualquiera de las enfermedades mencionadas que haya llegado a ser, o que esté llegando a ser, resistente al tratamiento con uno o más de los inhibidores de cinasa de tirosina men-

cionados, o que fuera resistente a este tratamiento ya antes del tratamiento con cualquier inhibidor de cinasa de tircsina, especialmente debido a que estén presentes concentraciones más altas de AGP en el plasma sanguíneo del individuo que se vaya a
5 tratar.

Las composiciones farmacéuticas comprenden de aproximadamente el 0.0001 por ciento a aproximadamente el 95 por ciento de cualquier componente (a) y/o (b), comprendiendo de preferencia las formas de dosificación que estén en una forma de una
10 sola dosis, de aproximadamente el 10 por ciento a aproximadamente el 90 por ciento del componente (a) ó (b), y comprendiendo de preferencia las formas de dosificación que no estén en una forma de una sola dosis, de aproximadamente el 10 por ciento a aproximadamente el 60 por ciento de cada componente. Las
15 formas de dosificación unitaria, tales como grageas, tabletas, ampolletas, o cápsulas, comprenden de aproximadamente 5 miligramos a aproximadamente 1.5 gramos del componente (a) y/o del componente (b), de preferencia de 5 miligramos a aproximadamente 1 gramo.

20 Las composiciones farmacéuticas se preparan de una manera conocida por sí misma, por ejemplo por medio de procesos convencionales de mezcla, granulación, confitería, disolución, o liofilización. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas para administración oral se pueden obtener mediante la combinación
25 ción del componente (a) y/o (b) con uno o más vehículos sólidos

o líquidos, donde sea necesarios se granula una mezcla resultante, y se procesa la mezcla o los gránulos, si se desea o es apropiado, con la adición de excipientes adicionales, para formar tabletas o núcleos de grageas o soluciones, respectivamente.

Los vehículos adecuados son especialmente rellenos, tales como azúcares, por ejemplo lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol, preparaciones de celulosa y/o fosfatos de calcio, por ejemplo trifosfato de calcio o fosfato ácido de calcio, y aglutinantes, tales como almidones, por ejemplo almidón de maíz, de trigo, de arroz o de papa, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, y/o polivinilpirrolidona, y/o, si se desea, desintegrantes, tales como los almidones anteriormente mencionados, y también almidón de carboximetilo, polivinilpirrolidona reticulada o ácido algínico, o una sal del mismo, tal como alginato de sodio. Los excipientes adicionales son especialmente acondicionadores de flujo y lubricantes, por ejemplo ácido silícico, talco, ácido esteárico, o sales del mismo, tales como estearato de magnesio o de calcio, y/o polietilenglicol, o sus derivados.

A los núcleos de grageas se les pueden proporcionar recubrimientos adecuados, opcionalmente entéricos, utilizándose, entre otras cosas, soluciones de azúcar concentradas, las cuales pueden comprender goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, o soluciones de

recubrimiento en solventes o mezclas de solventes orgánicos adecuados, o, para la preparación de recubrimientos entéricos, soluciones de preparaciones de celulosa adecuadas, tales como ftalato de acetilcelulosa o ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa. Se pueden agregar colorantes o pigmentos a las tabletas o a los recubrimientos de grageas, por ejemplo para propósitos de identificación, o para indicar diferentes dosis del ingrediente activo.

Las composiciones farmacéuticas oralmente administrables también son cápsulas llenadas en seco que consistan en gelatina, y también cápsulas selladas blandas consistentes en gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas llenadas en seco pueden contener el componente (a) y/o (b) en la forma de gránulos, por ejemplo mezclados con rellenos, tales como almidón de maíz, aglutinantes y/o abrillantadores, tales como talco o estearato de magnesio, y donde sea apropiado, estabilizantes (ver anteriormente para los "vehículos adecuados"). En las cápsulas blandas, el ingrediente activo de preferencia se disuelve o se suspende en excipientes líquidos adecuados, por ejemplo aceites grasos, [®]Lauroglicol (Gattefossé S.A., Saint Priest, Francia), [®]Gelucire (Gattefossé S.A., Saint Priest, Francia) o aceite de ajonjolí, aceite de parafina, o polietilenglicoles líquidos, tales como PEG 300 ó 400 (Fluka, Suiza), o polipropilenglicoles, a cada uno de los cuales también se les pueden agregar estabilizantes o detergen-

tes, o en agua que comprenda vehículos solubles adicionales como se mencionaron anteriormente, tales como metilcelulosa o manitol.

Otras formas orales de administración son, por ejemplo, soluciones o jarabes preparados de la manera acostumbrada, que comprendan al componente (a) y/o (b), por ejemplo en una forma suspendida, y en una concentración de aproximadamente el 0.001 por ciento al 20 por ciento, de preferencia de aproximadamente el 0.001 por ciento a aproximadamente el 2 por ciento, o en una concentración similar que proporcione una sola dosis adecuada cuando se administre, por ejemplo, en medidas de 0.5 a 10 mililitros. También son adecuados, por ejemplo, los concentrados en polvo o líquidos para preparar licuados, por ejemplo en leche. Estos concentrados también se pueden empacar en cantidades de una sola dosis.

Son posibles los Sistemas de Suministro Transdérmico, especialmente con ingredientes activos neutros. Las formulaciones adecuadas comprenden, por ejemplo, de aproximadamente el 0.0001 por ciento a aproximadamente el 2 por ciento en peso del componente (a) y/o (b). En un aspecto preferido, se proporcionan formulaciones que comprenden de aproximadamente el 2 por ciento al 99.9999 por ciento (o el resto hasta el 100 por ciento) de un alcohol alifático de cadena corta. Los alcoholes adecuados incluyen etanol, isopropanol, propilenglicol, y glicerol. En un aspecto más preferido, estas formulaciones pueden

comprender adicionalmente un mejorador de flujo. Los mejoradores de flujo adecuados incluyen, por ejemplo, sulfóxido de decilmetilo, sulfóxido de dimetilo, así como cetonas cíclicas, lactonas, anhídridos, y ésteres. Algunos de estos mejoradores de flujo también incrementan la retención del componente (a) y/o (b), y por lo tanto, actúan para incrementar su concentración en la piel misma. Para las formulaciones para tratamiento directo (local), tal como aplicación tópica a la piel, se prefiere utilizar un mejorador de flujo que no solamente maximice el flujo transdérmico, sino que incremente la retención del componente (a) y/o (b) en la piel. Se ha reportado que ciertos mejoradores de cetonas cíclica y lactona incrementan la retención local, así como, y por lo tanto, comprenden una clase preferida de mejoradores para administración tópica del componente (a) y/o (b). En las formulaciones para tratamiento sistémico, es preferible utilizar un mejorador de flujo que maximice el flujo con una retención local mínima del ingrediente activo.

Las concentraciones farmacéuticas rectalmente administrables adecuadas son, por ejemplo supositorios que consistan en una combinación del ingrediente activo con una base de supositorio. Las bases de supositorio adecuadas son, por ejemplo, triglicéridos naturales o sintéticos, hidrocarburos de parafina, polietilenglicoles, o alcoholes superiores.

Para administración parenteral, son adecuadas especialmente las soluciones acuosas de un ingrediente activo en una forma

soluble en agua, por ejemplo en la forma de una sal soluble en agua, en la presencia o en ausencia de sales, tales como cloruro de sodio, y/o alcoholes de azúcar, tales como manitol, o suspensiones acuosas para inyección que comprendan sustancias incrementadoras de la viscosidad, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol, y/o dextrano, y donde sea apropiado, estabilizantes. El componente (a) y/o (b), donde sea apropiado junto con excipientes, también puede estar en la forma de un liofilizado, y se puede hacer en una solución antes de su administración parenteral mediante la adición de solventes adecuados.

Las soluciones como se utilizan, por ejemplo, para administración parenteral, también se pueden utilizar como soluciones para infusión.

Las formulaciones preferidas que comprenden cualquier componente (b), son aquéllas que se acostumbran para el uso clínico respectivo de cualquiera o más agentes que pertenezcan a ese grupo de compuestos que se conocen en la técnica.

Las formulaciones preferidas para el componente (a) son las mencionadas en los ejemplos.

La invención también se refiere a un método para el tratamiento de las condiciones patológicas anteriormente mencionadas. Para este propósito, en las combinaciones como se describen anteriormente en la presente, cualquiera de los componentes (a) y/o (b), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mis-

mos, se puede administrar profilácticamente o terapéuticamente, de preferencia en una cantidad que sea efectiva contra las enfermedades mencionadas, a un animal de sangre caliente, por ejemplo el hombre, que requiera dicho tratamiento, de preferencia en la forma de una composición farmacéutica. La dosis de cualquier componente (a) y/o (b) depende de la especie del animal de sangre caliente que se vaya a tratar, de su peso corporal, de su edad, y de su estado individual, de las circunstancias farmacocinéticas individuales, de la enfermedad que se vaya a tratar, y de la vía de administración. De preferencia, para un peso corporal de aproximadamente 70 kilogramos, se administra una dosis diaria de 10 miligramos a 2,500 miligramos, más preferiblemente de aproximadamente 50 miligramos a aproximadamente 2,000 miligramos, muy preferiblemente de aproximadamente 100 miligramos a aproximadamente 1,500 miligramos de cualquiera de los componentes (a) y/o (b). Los niños reciben una dosis correspondientemente más baja, basándose en su área superficial de piel, (el área superficial de piel de un adulto de 70 kilogramos como referencia es e 1.73 metros cuadrados).

La presente invención se puede ilustrar mediante los siguientes ejemplos, que no pretenden limitar el alcance de la presente invención, sino que sirven meramente como modalidades paradigmáticas:

Ejemplos:

Introducción

El gen de fusión oncogénico BCR/ABL codifica para la proteína híbrida bcr/abl que ocasiona, debido a su actividad de cinasa de tirosina mejorada y constitutiva, tres enfermedades diferentes: Leucemia Mieloide Crónica (CML), parte de Leucemia Linfoblástica Aguda (ALL) y de Leucemia Mieloide Aguda (AML).

El bloque de la actividad de cinasa de bcr/abl representa una estrategia innovadora y racional para el tratamiento de CML y de los otros cánceres ocasionados por esta proteína de fusión oncogénica (Druker BJ, y colaboradores: Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr/Abl positive cells. Nat. Med. 2: 561-6, 1996).

El STI571 (anteriormente conocido como CGP57148 representa un inhibidor activo y relativamente específico de la actividad de cinasa de bcr/abl. El STI571 bloquea la proliferación, e induce la apoptosis en células BCR/ABL+ *in vitro*; inhibe el crecimiento de las células de médula ósea clonogénica obtenidas de pacientes de CML, y puede erradicar el crecimiento de células leucémicas *in vivo*. La actividad de STI571 *in vivo* está condicionada al logro de una inhibición estable y continua de bcr/abl, que requiere de múltiples administraciones diarias en el modelo murino que se estudió (le Coutre y colaboradores, J. Natl. Cancer Inst. 91, 163-168 (1999)).

Basándose en esta y en información adicional, el STI571 se

está probando ahora en ensayos clínicos iniciales en CML y en otras enfermedades asociadas con BCR/ABL. Esta disponible una información muy limitada con respecto al posible surgimiento de resistencia a STI571. Se han seleccionado dos líneas celulares para estudiar la resistencia a STI571 *in vitro* (le Coutre P. y colaboradores, Blood 90:496a, 1997). El mecanismo de resistencia se desconoce en un caso, mientras que involucra la amplificación de BCR/ABL y la sobreexpresión de proteína en el segundo. La relevancia biológica de estas sublíneas seleccionadas *in vitro*, sin embargo, todavía se tiene que establecer, debido a que las condiciones de selección *in vitro* son diferentes, y normalmente más estrictas que la situación *in vivo*.

No hay información disponible sobre el desarrollo y caracterización de la resistencia *in vivo* a STI571. En nuestro modelo de ratón anteriormente descrito (le Coutre P y colaboradores, J. Natl. Cancer Inst. 91, 163-168, 1999), se observó un fracaso del tratamiento en algunos animales, cuando el tratamiento se demoró por una semana después de la inyección de células leucémicas, y ya estaba presente una masa de tumor mensurable. Este modelo, por consiguiente, podría ser útil para estudiar y caracterizar el posible surgimiento de resistencia a STI571 *in vivo*.

Aquí, se establece un modelo para la resistencia *in vivo* a STI571. La caracterización molecular de este modelo, así como una estrategia para superar la presencia de resistencia,

también se identifica y se valida experimentalmente.

MATERIALES Y METODOS

STI571

Inhib timjin-inaja

5 El STI571 (previamente conocido como CGP57148B) se obtiene como se describe en las Patentes Números EP 0,564,409 y WO 99/03854. Para los experimentos *in vitro*, se preparan soluciones de suministro de este compuesto en 1 y en 10 mM con agua destilada, se filtran y se almacenan a -20°C, y luego se des-
10 congelan antes de que se inicie el experimento, y se utilizan en una concentración de 0.1-10 µM. Las preparaciones utilizadas para los experimentos animales, se hacen diariamente en una concentración de 16 miligramos/mililitro, y se disuelven en agua o en una solución de metilcelulosa al 5 por ciento (Metho-
15 cell, Fluka) y se mantienen a 4°C.

Eritromicina

Modulador de glicoproteína α-1.

Para los experimentos *in vitro*, se utiliza base de eritromicina (Sigma). Se prepara una nueva solución de suministro justo antes de cada experimento, en una concentración de 20 mM, y se utiliza en una concentración de 1-100 µM. La eritromicina
20 se disuelve en etanol, y se diluye adicionalmente con agua destilada. Para los experimentos *in vivo*, se utiliza estolato de eritromicina (proporcionado por Gist-Brocades Italy SPA, Capua, Italia) en una concentración de 35 miligramos/mililitro, en una
25 solución de metilcelulosa al 5 por ciento, y STI571 16 miligra-

mos/mililitro.

Administración in vivo de STI571

Los ratones CD1 nu/nu hembras de 7 a 9 semanas de edad adquiridos en Chales River Breedin Laboratories (Calco, Italia) se mantienen bajo condiciones de laboratorio convencionales de acuerdo con los lineamientos de los Institutos Nacionales de Cáncer, Milán, Italia. Este estudio está aprobado por el comité de ética institucional para los animales de laboratorio utilizados en la investigación experimental. Se inyecta la línea celular positiva para bcr/abl Ku812 (50×10^6 células por animal) subcutáneamente en el flanco izquierdo del animal. Se administra el tratamiento oral a través de una jeringa conectada con un tubo de plástico suave introducido en el esófago (dándolo).

El peso del tumor (TW) y el peso total se monitorean cada 3 a 4 días. El peso del tumor se calcula mediante la fórmula $TW [mg] = (d^2 \times D)$, en donde d y D son los diámetros más corto y más largo del tumor, respectivamente, medidos en milímetros. El tratamiento se inicia de 1 a 15 días después de la inyección de células leucémicas.

Líneas Celulares

Se utiliza la línea celular de leucemia humana KU812 positiva para Bcr/Abl (ver Kishi K. A new leukemia cell line with Philadelphia chromosome characterized as basophil precursors).

Leuk Res 2: 381-90, 1985). La línea KU812 se obtuvo de un paciente de CML en crisis, y se mantiene en RPMI 1640 (Bio Whittaker Europe), complementado con suero fetal de becerro al 10 por ciento (FCS) bajo condiciones de cultivo celular convencionales.

La línea celular KU812 es accesible por medio de Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ), Mascheroder Weg, Braunschweig, Alemania, que tiene el número de acceso DSMZ No: ACC 378.

Otras líneas celulares análogas que se pueden utilizar en las pruebas descritas más adelante, son:

Línea Celular: BV-173 (Tipo de Célula: leucemia precursora de células B humanas) DSMZ No: ACC 20;

Línea Celular: K-562 (Tipo de Célula: leucemia mieloide crónica humana en crisis) DSMZ No: ACC 10;

Línea Celular: LAMA-84 (Tipo de Célula: leucemia mieloide crónica humana en crisis) DSMZ No: ACC 168;

Línea Celular: EM-3 (Tipo de Célula: leucemia mieloide crónica humana en crisis) DSMZ No: ACC 134;

Línea Celular: MEG-01 (Tipo de Célula: leucemia mieloide crónica humana en crisis megacariocítica) DSMZ No: ACC 364; 6

Línea Celular: NALM-1 (Tipo de Célula: leucemia mieloide crónica humana en crisis) DSMZ No: ACC 131.

Determinación de la actividad de proliferación in vitro (ensayo de recuperación de timidina tritiada [³HtdR])

200 microlitros de cada línea celular (KU 812, LAMA 84),
conteniendo 104 células, se siembran en diferentes concentra-
5 ciones de STI571, desde 0 hasta 10 μ M, en placas de microtitu-
lación de 96 pozos (Corning Costar Corp., Cambridge, MA) en
seis réplicas. Después de 54 horas a 37°C, se agregan 20 mi-
crolitros de RPMI 1640 + FCS al 10 por ciento conteniendo timi-
dina tritiada (1 μ Ci/pozo) a cada pozo. Después de 18 horas
10 adicionales, se cosechan las células y se transfieren a un fil-
tro (Estera de Filtro Spot-on, Pharmacia Biotech Europe, Bru-
selas, Bélgica). La recuperación de timidina tritiada se determi-
na mediante un contador de cintilación de líquidos de placa be-
ta 1205 (Wallac Inc., Turku, Finlandia). La IC₅₀ (concentra-
15 ción inhibidora 50) se define como la concentración del com-
puesto que produce una reducción de proliferación del 50 por
ciento en comparación con los controles no tratados.

Análisis Western blot

20 Se realiza el inmunomanchado como se describió anterior-
mente (Gambacorti-Passerini C y colaboradores: Blood Cells, Mo-
lecules, and Diseases 23, 380-94, 1997). Las células se lavan
dos veces con suero regulado con fosfato (PBS) frío, y subse-
cuentemente se lisan en 200 microlitros de regulador de Laemmli
25 1 x (Tris-HCl 50 mM, pH de 6.8, SDS al 2 por ciento, azul de

bromofenol al 0.1 por ciento, glicerol al 10 por ciento, β -mercaptoetanol al 5 por ciento). Los lisados celulares, correspondientes a 90,000 - 150,000 células, se hierven a 95°C durante 10 minutos, se sonicen durante 1 minuto, y se analizan mediante electroforesis en gel SDS sobre geles de poliacrilamida al 7.5 por ciento. Se detectan bcr/abl endógeno, bcr/abl tirosinfosforilado, y la actina endógena, con el anticuerpo monoclonal de ratón correspondiente, o con antisuero de conejo, y luego se visualizan mediante detección de quimiluminiscencia mejorada (ECL, Amersham Corp.) utilizando inmunoglobulina G de cabra anti-ratón o anti-conejo enlazada con peroxidasa de rábano como el anticuerpo secundario (Amersham Corp). El anticuerpo monoclonal anti-abl (Clon Ab-3) se adquiere en Calbiochem. El anticuerpo monoclonal anti-fosfotirosina (clon 4G10) se adquiere en Upstate Biotechnology. El anticuerpo policlonal de conejo anti-actina se adquiere en Sigma. El análisis densitométrico se realiza con un Fosfodensitómetro Eagle Eye 11 (Stratagene), y las intensidades de las bandas de bcr/abl fosforilado con tirosina se normalizan contra los niveles de expresión de bcr/abl y actina.

Determinación de AGP

Los niveles en suero de glicoproteína ácido- α_1 (AGP) se detectan mediante inmunodifusión, o bien mediante el método de isoelectroenfoque. Para la inmunodifusión, se aplican 5.0 mi-

crolitros de cada muestra en un pequeño pozo de una placa de ágar (SRID, prueba de placa de inmunodifusión radial sencilla, Cardiotech Services JINIC Louisville, 1KY, EUA), que contiene antisuero de AGP. La placa se incubaba durante 24 horas a 37°C.

5 La cantidad específica de AGP dentro de la muestra se mide por el tamaño del anillo de precipitina, y se determina mediante una comparación con los estándares a 1,000, 250, y 125 microgramos/mililitro, proporcionados con cada estuche de prueba.

Las determinaciones se realizan por duplicado. Para el isoe-

10 lectroenfoco, se vacía una IPG (gradiente de pH inmovilizado)

(Gianazza, E., Celentano, F, Ettori, C., Righetti, P.G., Immobilized pH gradients: Theory and methodology. Electrophoresis

1989, 10, 806-808) en el rango de pH de 2.5 a 5, entre una solución ácida que contiene Inmovilina pK 1, 3 mM, pK 3.6, 11.83

15 mM, pK 9.3, 0.76 mM, y Tris 12.9 mM, y una solución básica que

contiene inmovilina pK 3.6, 9.28 mM, pK 4.6, 9.50 mM, y pK 9.3, 16.13 mM (Amersham Pharmacia, Uppsala, Suecia). Después de la

polimerización, el gel se lava tres veces en glicerol al 1 por

ciento, se seca y se hidrata en urea 8M - anfolitos portadores

20 al 0.5 por ciento, rango de pH de 2.5 a 5 (Pharmacia). Subse-

cuentemente, se cargan alícuotas de 7.5 microlitros de suero,

diluidas hasta 25 microlitros con 2-mercaptoetanol al 2 por

ciento, cerca del cátodo. Después de una prueba durante la no-

che a 55 V/cm, las muestras se enfocan durante 90 minutos a 165

25 V/cm. el patrón de proteína se tiñe con Coomassie.

Estimación de los parámetros de enlace

Se incuban plasma o AGP humana purificada (Sigma) o albúmina (diluida en PBS) con diferentes concentraciones de STI571 a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las concentraciones de STI571 se determinan mediante HPLC, con un límite inferior de detección de 0.1 μ M. El STI571 libre se determina mediante ultrafiltración con un corte a 30 KD. Se construyen las gráficas de Scatchard Modificadas. Se calcula la Constante de Asociación (Ka) como se describió anteriormente (Fuse E, Tanii H, Kurata N y colaboradores, Cancer Res., 58, 3248-53, 1998).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realiza con la prueba exacta de Fisher o T. Estudiante utilizando el programa de análisis Prism. Para los análisis de sobrevivencia, los datos se comparan mediante la prueba de Logrank. Los valores $P < 0.05$ se consideran estadísticamente significativos, y se derivan a partir de pruebas estadísticas dobles.

Ejemplo 1: La eficacia de STI571 está relacionada con la carga de tumor inicial

Los ratones sin pelo se inyectan subcutáneamente con 50 millones de células KU812. El tratamiento se inicia después de 1, 8, y 15 días, respectivamente (grupos I a III), en la pre-

sencia de aproximadamente 50 300 millones y 1,000 millones de células leucémicas. Aunque se observa regresión del tumor en todos lo grupos, solamente se obtienen curas en los primeros dos grupos. La Figura 1A muestra los resultados de un experimento representativo. Aunque todos los animales del grupo I se curan de una manera reproducible, los ratones del grupo II desarrollan reincidencias de entre el 33 por ciento y el 40 por ciento; no se observa nunca una cura en el grupo III. Las reincidencias normalmente se desarrollan de 1 a 3 semanas después de la discontinuación del tratamiento. La Figura 1B presenta los resultados combinados de tres experimentos diferentes. Es evidente una clara relación entre la cantidad de tumor presente al principio del tratamiento, y el resultado de la terapia. Una posible explicación para estos resultados podría residir en la duración insuficiente de administración de STI571 en los grupos II y III. Para probar esta hipótesis, los ratones del grupo II se tratan durante 11 ó 18 días. El resultado de un experimento representativo se muestra en la Figura 1C, e indica que el incremento en la duración del tratamiento no aminora la velocidad de cura. Estos resultados indican que, en este modelo, el tratamiento con STI571 puede curar a los animales solamente si se erradica el tumor en los primeros 11 días del tratamiento. Si no sucede esto, no se puede alcanzar la cura, inclusive con una exposición más larga al compuesto. En otra palabras: ha surgido algún tipo de resistencia.

Ejemplo 2: Los tumores reincidentes muestran resistencia in vivo, pero retienen su sensibilidad in vitro a STI571

Los animales que presentan tumores recurrentes se vuelven
5 a tratar con el mismo programa de STI571 (régimen de 11 días).
El tratamiento empieza tan pronto como los tumores llegan a ser
nuevamente mensurables. La Figura 2 muestra un experimento re-
presentativo. Es evidente que los tumores reincidentes respon-
den pobremente al nuevo tratamiento, y eventualmente empiezan a
10 crecer de una manera similar a los tumores de los animales no
tratados (líneas punteadas). Aunque las células leucémicas son
resistentes in vivo a STI571, no se conoce su sensibilidad in-
trínseca al STI571. Para investigar esta cuestión, se separan
los tumores de los animales resistentes, se obtienen suspensio-
15 nes celulares, y se colocan las células en cultivo, y se prue-
ban para determinar la sensibilidad in vitro a STI571 dentro de
24-48 horas, como se describió anteriormente (le Coutre P, y
colaboradores, J. Natl, Cancer Inst. 91, 163-168, 1999). La Fi-
gura 3 presenta los resultados obtenidos de dos de estos tumo-
20 res. Es evidente que las células leucémicas obtenidas de los
animales resistentes retienen su sensibilidad a STI571, debido
a que su IC₅₀ no difiere de aquélla de la línea celular paren-
tal KU812. Estos resultados no conducen a evaluar si la acti-
vidad es cinasa de la proteína bcr/abl todavía es inhibida por
25 la administración de STI571. Con este objetivo, se realizan

experimentos farmacocinéticos moleculares (descritos en le Coutre P, y colaboradores, J. Natl, Cancer Inst. 91, 163-168, 1999), para investigar el grado y la duración de inhibición de bcr/abl *in vivo* en los animales que no son previamente tratados, o en ratones que reincidieron después del tratamiento inicial, y fueron resistentes a un segundo ciclo de administración de STI571. Los ratones que tienen tumor se tratan agudamente, y se sacrifican a las 2 y a las 4 horas. Los niveles de actividad de cinasa de Bcr/Abl (medida como autofosforilación) obtenidos en un experimento representativo, se muestran en la Figura 4. Aunque los ratones no tratados previamente muestran la inhibición anteriormente reportada en la fosforilación de bcr/abl tanto a las 2 como a las 4 horas (pistas 4 y 6), los animales reincidentes resistentes a STI571 no son inhibidos por el tratamiento (pistas 3 y 5). Estos experimentos indican que los ratones reincidentes son resistentes a un tratamiento adicional, y que no se logró en esta situación la inhibición de la actividad de cinasa de bcr/abl. Sin embargo, las células leucémicas retienen su sensibilidad *in vitro* a STI571.

20

Ejemplo 3: Niveles de plasma de STI571 en ratones reincidentes

Una posible explicación de los resultados anteriormente reportados, podría residir en un metabolismo incrementado de STI571 en los animales previamente tratados, con niveles en

25

plasma de STI571 más bajos resultantes. Para investigar esta cuestión, los ratones que tienen tumor, ya sea previamente tratados con STI571 o no (controles), se sacrifican a las 0.5, 2.0, y 5.0 horas después de un tratamiento agudo con STI571, y se determinan las concentraciones totales en plasma de STI571 mediante HPLC. Los resultados se presentan en la Figura 5. Aunque los animales de control y previamente tratados alcanzan niveles en plasma similares a los 30 minutos, los niveles de STI571 disminuyen más rápidamente en los animales de control, comparándose con los ratones previamente tratados ($p < 0.01$). Las concentraciones intratumorales muestran un patrón opuesto; los tumores presentes en los animales previamente tratados contienen concentraciones más bajas de STI571 en todos los puntos del tiempo, alcanzando este fenómeno un significado estadístico en el punto del tiempo de 5 horas. Estos resultados no confirman nuestra hipótesis, e inclusive muestran que los animales resistentes mantienen concentraciones más altas de STI571 en su sangre durante un tiempo mas largo. Estos datos, entre otras alternativas, podrían en su lugar ser compatibles con la presencia, en la sangre de los ratones resistentes, de un "factor" capaz de fijarse y reducir la tolerancia y la actividad biológica del STI571.

Ejemplo 4: La glicoproteína ácida- α_1 (AGP) fija el STI571, e inhibe sus efectos.

Dos proteínas de plasma que pueden fijar fármacos son albúmina y AGP. La AGP de preferencia fija las moléculas básicas (Kremer y colaboradores, Drug binding to human α_1 -acidic glycoprotein in health and disease, Pharmacological Reviews 40, 1-47, 1988). Se utilizan células KU812 *in vitro* para evaluar el efecto de la AGP sobre la actividad biológica del STI571. Debido a que no está disponible la AGP de murino en cantidades suficientes para este tipo de experimentos (Fuse E y colaboradores, Cancer Res. 58, 3248-53, 1998), se utiliza AGP humana.

Los resultados de un experimento representativo se presentan en la Figura 6A. Es evidente que la AGP inhibe la actividad del STI571 (medida con IC_{50}); este efecto es proporcional a la concentración de AGP. La IC_{50} se incrementa desde los 0.05 μM usuales en ausencia de AGP (Gambacorti-Passerini C, y colaboradores, Blood Cells, Molecules, and Diseases 23, 380-94, 1997), hasta más de 3.0 μM en una concentración de AGP de 2 miligramos/mililitro. En un experimento separado, se calcula la IC_{50} en 2.0 miligramos/mililitro de AGP, a 4.5 μM (no se muestran los datos). La albúmina no incrementa sustancialmente la IC_{50} para STI571, inclusive en 50 miligramos/mililitro (Figura 6B). Por consiguiente, la AGP pero no la albúmina, puede incrementar la IC_{50} para STI571 hasta valores 90 veces más altos que en los controles.

Debido a que se observa un efecto inhibitor de AGP, se calcula la Constante de Asociación (K_a) de STI571 para AGP y

para albúmina. Con este objetivo, se incubó una cantidad fija de AGP (5 μ M) con diferentes concentraciones de STI571, y se evalúa la cantidad de fármaco no fijado (fracción libre) mediante ultrafiltración. Se obtienen las curvas de la gráfica de Scatchard tanto para AGP como para albúmina. En el caso de la AGP, se encuentra un valor de 8.7 litros/mol, que es aproximadamente 60 veces más alta que la K_a calculada para albúmina (0.15). Estos resultados indican que, aunque tanto la albúmina como la AGP pueden fijar el STI571, la última fija el STI571 con una afinidad mucho más alta, y como resultado, inhibe la actividad biológica del STI571.

Para confirmar los resultados anteriormente mencionados, se estimulan células KU818[?] *in vitro* con sueros que contienen diferentes cantidades de AGP. La Figura 7 presenta un experimento representativo en donde se agregan dos sueros que contienen 130 microgramos/mililitro de AGP (triángulos), y 1,150 microgramos/mililitro de AGP (cuadros), respectivamente (en una concentración final del 15 por ciento), a cultivos de KU812 (control: suero al 0 por ciento; rombos). Es evidente que la inhibición de la actividad de STI571 está asociada con el contenido respectivo de AGP de cada muestra de suero. El cambio en el porcentaje de suero presente en el cultivo, produce un incremento o una reducción proporcional en su actividad inhibidora (no mostrado). Se concluye que la AGP puede fijar el STI571; y esta fijación tiene importantes consecuencias bioló-

gicas, y bloquea la capacidad del STI571 para inhibir la actividad enzimática de la cinasa de Bcr/Abl.

Ejemplo 5: Relación entre los niveles en suero de AGP, la carga tumoral y el tratamiento con STI571

Los resultados previamente presentados indican que la AGP, una proteína en plasma inducible, inhibe potentemente la actividad de STI571 *in vitro*. Se determinan los niveles en plasma de AGP en ratones sin pelo en diferentes etapas de la enfermedad, mediante inmunodifusión, para evaluar si estos valores se pueden asociar con la sensibilidad *in vivo* de las células leucémicas KU812 al tratamiento con STI571. La Figura 8A presenta los valores de AGP en ratones en diferentes etapas de la enfermedad. Los valores de AGP basales en ratones son muy bajos (96 ± 21 microgramos/mililitro). Las concentraciones de AGP se elevan proporcionalmente con la carga de tumor presente. Los ratones con una carga de tumor de aproximadamente 200 miligramos (correspondientes a aproximadamente 200 millones de células leucémicas) muestran un incremento del cuádruple en los valores de AGP (383 ± 131 microgramos/mililitro), mientras que lo ratones con 0.8 - 1 gramo de tumores, muestran valores de AGP mayores de 1 miligramo/mililitro ($1,580 \pm 234$ microgramos/mililitro). Los animales con tumores mensurables que se curan mostraron una reducción progresiva en las concentraciones de AGP, y regresaron a los niveles normales en 4 - 8 semanas. Los

experimentos con AGP purificada indican que las variaciones en las concentraciones de AGP observadas entre los ratones normales y los animales que tienen tumores grandes, ocasionan un cambio en la fracción de STI571 fijada por AGP desde el 42 por ciento hasta más del 99 por ciento (no mostrado). Es interesante que el tratamiento con STI571 (160 miligramos/kilo-gramo oralmente durante 11 días) también produce un incremento más bajo pero estadísticamente significativo de los valores de AGP (213 $\pm$ 43 microgramos/mililitro). Los mayores niveles de AGP en los ratones que tienen tumor también son evidenciados mediante isoelectroenfoque (Figura 8B). Estos resultados tomados juntos, muestran que la carga de tumor (y hasta un menor grado el tratamiento previo con STI571) induce la síntesis de AGP, una proteína en plasma que, a su vez, puede fijar e inactivar el STI571.

Ejemplo 6: La eritromicina, enlazadora de AGP, puede liberar el bloqueo mediado por AGP de la actividad del STI571 in vitro.

(a) Se sabe que varios fármacos se enlazan con AGP, incluyendo eritromicina (Kremer y colaboradores, Pharmacological reviews 40, 1-47, 1988). Si el mecanismo mediante el cual la AGP bloque el STI571 es mediado por el enlace de la AGP al STI571, entonces una tercera molécula capaz de enlazarse con AGP podría competir con el STI571 por el enlace de AGP, hacien-

do de esta manera que el STI571 esté más disponible para la actividad biológica. Para validar esta hipótesis, se agrega eritromicina en 5 a 30 μM a cultivos de KU812 conteniendo STI571 (1 μM), AGP 1 miligramo/mililitro), o tanto STI571 L(1 μM) como AGP (1 miligramo/mililitro). Los resultados de un experimento representativo se presentan en la Figura 9 (STI solo: cuadros; AGP sola: triángulos; STI y AGP: rombos). La eritromicina restablece la sensibilidad al STI571 con una clara relación de respuesta a la dosis. La eritromicina no modifica la IC_{50} para STI571 en ausencia de AGP, excluyendo de esta manera un efecto directo sobre el efecto anti-leucémico del STI571 (no mostrado).

(b) También se evalúan los efectos de la eritromicina sobre el bloque mediado por STI571 de la actividad de cinasa de bcr/abl (Figura 10). Las células KU812 se tratan *in vitro* con STI571, AGP, y eritromicina, se incuban a 37°C durante 1 hora y se lisa; luego se evalúa la cantidad de actividad de cinasa utilizando un anticuerpo anti-fosfotirosina. La Figura 10 muestra que la AGP inhibe la actividad del STI571. La actividad del STI571 se puede restablecer mediante la adición de eritromicina.

Los experimentos (a) y (b) proporcionan evidencia en dos ensayos diferentes, de que la eritromicina puede restablecer la sensibilidad del STI571 *in vitro*.

Ejemplo 7: Efectos in vivo de la administración de eritromicina y del tratamiento previo con STI571

(a) Habiendo demostrado el efecto inhibidor de la AGP y su reversión mediante eritromicina *in vitro*, validamos experimentalmente la modulación *in vivo* de los valores de AGP, o de su capacidad de enlace. Los ratones se inyectan con células KU812, y se inicia el tratamiento 11 días después en la presencia de una carga de tumor aproximada de 400 miligramos. En esta situación, se esperan pocas o ninguna cura a partir de un tratamiento estándar con STI571. Los ratones se tratan con STI571 (160 miligramos/kilogramo oralmente cada 8 horas) solo o en combinación con estolato de eritromicina (350 miligramos/kilogramo cada 8 horas) durante 18 días. La formulación de etolato de eritromicina se selecciona, debido a que previamente se demostró su buena disponibilidad oral en ratones, esperándose que la dosis seleccionada produzca concentraciones pico más altas que 20 μ M. Como se ejemplifica en la Figura 11A, el tratamiento combinado produce una reducción de tumor significativamente más alta en el día 6, y a partir del día 16 en adelante. Es importante observa que, aunque la regresión del tumor es progresiva en los ratones que reciben el tratamiento combinado, algunos tumores empiezan a volver a crecer durante los últimos días del tratamiento en el grupo tratado solamente con STI571. El efecto de agregar eritromicina al STI571 es todavía más evidente cuando se comparan las velocidades de curación en

los dos grupos (Figura 11B). En la serie que recibe solamente STI571, 5/15 animales muestran desaparición del tumor. Sin embargo, 4 animales reincidieron entre los días 25 y 40, curándose solamente 1/13 animales en el día 120 (último día del seguimiento). En el grupo que recibió la terapia combinada de eritromicina/STI571, 14/15 ratones llegaron a quedar sin tumor, y solamente un animal reincidió, en el día 30. Por consiguiente, 10/12 animales se curan con el tratamiento combinado; este valor es significativamente diferente ($p < 0.01$) del obtenido (1/13) en el grupo con solamente STI571. Los grupos de control que reciben eritromicina solamente, no muestran evidencia alguna de regresión del tumor (no mostrado).

(b) También se evalúan los efectos biológicos del tratamiento previo con STI571. Los ratones se tratan previamente o no con STI571 durante 14 días, se inyectan con células KU812, y luego se tratan con STI571 (160 miligramos/-kilogramo cada 8 horas durante 11 días), empezando 24 horas después de la inyección de células leucémicas. Bajo estas circunstancias, se espera que el 100 por ciento de los animales se curen con el STI571. Los resultados se presentan en la Figura 12. En el grupo de control (ratones no tratados previamente) 0/14 animales desarrollaron crecimiento del tumor. En el grupo de los ratones previamente tratados, el crecimiento del tumor se presenta en 7/14 animales ($p < 0.05$), indicando que el incremento de AGP asociado con el tratamiento previo con STI571 también puede

producir un efecto biológico significativo. Estos resultados, tomados juntos, apoyan la evidencia experimental para los efectos negativos de la AGP sobre la actividad terapéutica del STI571; también sugieren y proporcionan una validación experi-
 5 mental parcial de una estrategia que tiene como objetivo derivar *in vivo* la resistencia mediada por AGP, utilizando moléculas capaces de enlazarse con AGP en competencia con el STI571.

Ejemplo 8: Tabletas con metansulfonato de 4-[(4-metil-1-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinilaminol-fenil]benzamida, forma del cristal-β. Imatinib.

Normalmente se preparan tabletas que contienen 100 miligramos de la sustancia activa mencionada en el título, en la siguiente composición:

15

Composición

	Ingrediente activo	100 mg
	Lactosa cristalina	240 mg
	Avicel	80 mg
20	PVPPXL	20 mg
	Aerosil	2 mg
	Estearato de magnesio	5 mg

		447 mg

25

Preparación: La sustancia activa se mezcla con los materiales de vehículo, y se comprimen en una máquina formadora de tabletas (Korsch EKO, diámetro de perforación de 10 milímetros).

Avicel es celulosa microcristalina (FMC, Filadelfia, EUA).

5 PVPPXL es polivinilpirrolidona, reticulada (BASF, Alemania).

Aerosil es dióxido de silicio (Degussa, Alemania).

10 Ejemplo 9: Cápsulas con metansulfonato de 4-[(4-metil-1-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinilamino]fenil]benzamida, forma del cristal-β.

Se preparan normalmente cápsulas que contienen 100 miligramos del compuesto mencionado en el título como sustancia activa, en la siguiente composición:

15

Composición

	Ingrediente activo	100 mg
	Avicel	200 mg
	PVPPXL	15 mg
20	Aerosil	2 mg
	Estearato de magnesio	1.5 mg

		318.5 mg

25 Las cápsulas se preparan mezclando los componentes, y lle-

nando la mezcla en cápsulas de gelatina dura, tamaño 1. PVPPXL = Crospovidona XL (ver el Ejemplo 10).

Ejemplo 10: Cápsulas con metansulfonato de 4-[(4-metil-1-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinilaminofenil]benzamida, forma del cristal-β.

Crospovidona XL: Povidona reticulada = homopolímero reticulado insoluble en agua de N-vinil-2-pirrolidona.

Aerosil 200: gel de sílice puro (área superficial de acuerdo con BET $200 \pm 25 \text{ m}^2/\text{g}$. tamaño de grano promedio, 12 nanómetros).

Avicel: celulosa microcristalina.

La composición del relleno de la cápsula para las cápsulas de 100, 50, y 25 miligramos es idéntica. Las diferentes concentraciones de dosificación se obtienen variando solamente el peso del relleno de la cápsula. Los tamaños de cápsula pretendidos son 100 miligramos tamaño 1, 50 miligramos tamaño 3, y 25 miligramos tamaño 4.

Tabla 1: Composición para cápsulas (Cantidades utilizadas por cada lote en [kg])

	Excipientes	Porcentaje	100 mg.	50 mg.	25 mg.
	sal de metansul-				
5	fonato de 4-(4-				
	metilpiperazin-1-				
	ilmetil)-N-[4-me-				
	til-3-(4-piridin-				
	3-il)pirimidin-2-				
10	ilamino)fenil]-				
	benzamida en la				
	forma del cristal-				
	β	51.96	119.50	59.75	29.875
	Avicel PH 102	40.00	92.00	46.00	23.000
15	Crospovidona XL	6.52	15.00	7.50	3.750
	Aerosil 200	0.87	2.00	1.00	0.500
	Estearato de mag-				
	nesio	0.65	1.50	0.75	0.375
	Total	100.00	230.00	115.00	57.50
20	Tamaño de cápsula		1	3	4

Tabla 2:

Ingrediente	Porcentaje	100 mg	50 mg
	CANTIDAD POR LOTE (%)	CANTIDAD POR LOTE (Kg)	CANTIDAD POR LOTE (Kg)
sal de mentan- sulfonato de 4- (4-metilpipera- zin-1-ilmetil)-N- [4-metil-3-(4-pi- ridin-3-il)piri- midin-2-ilamino)- fenil]-benzamida en la forma del cris-tal-β	51.96	18.224	9.112
Celulosa MK GR	40.00	14.030	7.015
Crospovidona XL	6.52	2.288	1.144
Aerosil 200	0.87	0.305	0.153
Estearato de Mag- nesio	0.65	0.228	0.114
Total	100.00	35.075	17.538
Tamaño de cápsula		1	3
Cantidad de cáp- sulas		152'500	152'500

Ejemplo 11: Composición de formulación de Eritromicina típica

Aquí se puede utilizar cualquier formulación convencional conocida para la eritromicina

5 Un ejemplo para una formulación con estolato de eritromicina se da en la Tabla 3.

Tabla 3: (Cantidades Utilizadas por cada lote en [Kg])

Excipiente	Porcentaje	100 mg.	50 mg.	25 mg.
10 Estolato de eritromicina	51.96	119.50	59.75	29.875
Avicel PH 102	40.00	92.00	46.00	23.000
Crospovidona XL	6.52	15.00	7.50	3.750
Aerosil 200	0.87	2.00	1.00	0.500
15 Estearato de Magnesio	0.65	1.50	0.75	0.375
Total	100.00	230.00	115.00	57.50

20

25

Ejemplo 12: Posible composición combinada con tanto eritromicina como STI571

Tabla 4: (Cantidades utilizadas por cada lote en [kg])

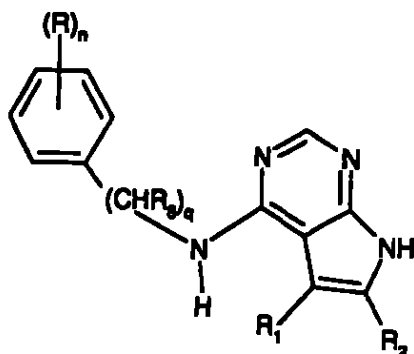
	Excipientes	Porcentaje	100 mg.	50 mg.	25 mg.
5	sal de metansul- fonato de 4-(4- metilpiperazin-1- ilmetil)-N-[4-me- til-3-(4-piridin-				
10	3-il)pirimidin-2- ilamino)fenil]- benzamida en la forma del cristal- β	25.98	59.75	29.875	14.9375
15	Estolato de eritro- micina	25.98	59.75	29.875	14.9375
	Avicel PH 102	40.00	92.00	46.00	23.000
	Crospovidona XL	6.52	15.00	7.50	3.750
	Aerosil 200	0.87	2.00	1.00	0.500
20	Estearato de mag- nesio	0.65	1.50	0.75	0.375
	Total	100.00	230.00	115.00	57.50

REIVINDICACIONES

1. Una preparación en combinación que comprende: (a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y (b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácido- α_1 (AGP); o sales farmacéuticamente aceptables de cualquier componente (a), (b), o (a) y (b), si está presente cuando menos un grupo formador de sal, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

2. Una preparación en combinación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit, (a) se selecciona a partir del grupo que consiste en:

(i) un compuesto de 7H-pirrólo[2,3-d]pirimidina de la fórmula VI:



(VI)

en donde:

q es 0 ó 1,

n es de 1 a 3 cuando q es 0, o n es de 0 a 3 cuando q es

1,

R es halógeno, alquilo inferior, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, alcoxilo inferior, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamóilo, N-alquilcarbamóilo inferior, N,N-dialquilcarbamóilo inferior, ciano, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, o trifluorometilo, siendo posible, cuando estén presentes varios radicales R en la molécula, que estos radicales sean idénticos o diferentes;

a) R_1 y R_2 son cada uno independientemente del otro:

10 α) fenilo sustituido por carbamoilmetoxilo, carboximetoxilo, benzoiloxycarbonilmetoxilo, alcoxycarbonilmetoxilo inferior, fenilo, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamóilo, N-
15 alquilcarbamóilo inferior, N,N-dialquilcarbamóilo inferior, ciano, o por nitro;

β) hidrógeno;

γ) piridilo insustituido o sustituido por halógeno o por alquilo inferior;

20 δ) N-bencilpiridinio-2-ilo; naftilo; ciano; carboxilo; alcoxycarbonilo inferior; carbamóilo; N-alquilcarbamóilo inferior; N,N-dialquilcarbamóilo inferior; N-bencilcarbamóilo; formilo; alcanóilo inferior; alquenilo inferior; alqueniloxilo inferior; o

25 ϵ) alquilo inferior sustituido por:

εα) halógeno, amino, alquilamino inferior, piperazino, dialquilamino inferior,

εβ) fenilamino que está insustituido o sustituido en la
5 fracción de fenilo por halógeno, alquilo inferior, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, alcoxilo inferior, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior, ciano, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, o
10 por trifluorometilo,

εγ) hidroxilo, alcoxilo inferior, ciano, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior, mercapto, o

εδ) por un radical de la fórmula $R_1-S(O)_m-$ en donde R_1 es
15 alquilo inferior, y m es 0, 1 ó 2, o

b) cuando q es 1, uno de los radicales R_1 y R_2 es alquilo inferior insustituido o fenilo insustituido, y el otro de los radicales R_1 y R_2 tiene uno de los significados dados anteriormente en el párrafo a), con la excepción de hidrógeno, o

20 c) R_1 y R_2 son juntos 1,4-alcadienileno de 4 a 10 átomos de carbono sustituido por amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, nitro, halógeno, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior, o por ciano, o son aza-1,4-
25

alcadienileno que tiene hasta 9 átomos de carbono, o

d) cuando q es 1, R_1 y R_2 son cada uno independientemente del otro, alquilo inferior insustituido o fenilo insustituido, o tienen uno de los significados dados anteriormente en el párrafo a), y

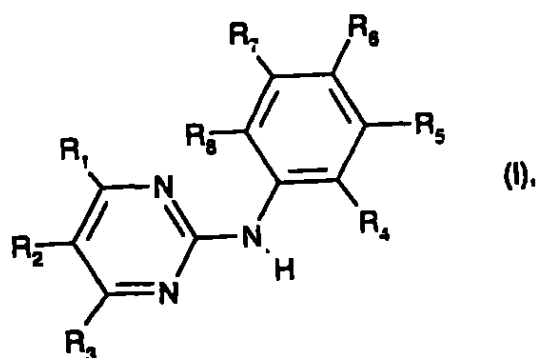
R_6 es hidrógeno, alquilo inferior, alcóxicarbonilo inferior, carbamoilo, N-alquilcarbamoilo inferior, o N,N-dialquilcarbamoilo inferior,

o una sal del mismo;

y

(ii) un derivado de N-fenil-2-pirimidinamina de la fórmula

I:



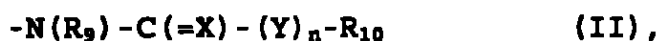
en donde:

R_1 es pirazinilo, 1-metil-1H-pirrolilo, fenilo sustituido por amino o por aminoalquilo inferior, en donde el grupo amino en cada caso está libre, alquilado, o acilado, 1H-indolilo ó 1H-imidazolilo enlazado en un átomo de carbono del anillo de 5 miembros, o piridilo insustituido o sustituido por alquilo inferior enlazado en un átomo de carbono del anillo, e insusti-

tuido o sustituido en el átomo de nitrógeno por oxígeno,

R_2 y R_3 son cada uno independientemente del otro, hidrógeno o alquilo inferior,

uno o dos de los radicales R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , y R_8 son cada uno
 5 nitro, alcoxilo inferior sustituido por flúor, o un radical de la fórmula II:



en donde:

10 R_9 es hidrógeno o alquilo inferior,

X es oxo, tio, imino, N-alquilimino inferior, hidroximino, u O-alquilhidroximino inferior,

Y es oxígeno o el grupo NH,

n es 0 ó 1, y

15 R_{10} es un radical alifático que tiene cuando menos 5 átomos de carbono, o un radical aromático, aromático-alifático, cicloalifático, cicloalifático-alifático, heterocíclico, o heterocíclico-alifático, y los radicales restantes R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , y R_8 son cada uno independientemente de los otros, hidrógeno, al-
 20 quilo inferior que está insustituido o sustituido por amino libre o alquilado, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, o por morfolinilo, o alcanóilo inferior, trifluorometilo, hidroxilo libre, eterificado o esterificado, amino libre, alquilado o acilado, o carboxilo libre o esterificado, o

25 una sal de estos compuestos que tengan cuando menos un

grupo formador de sal;

y el compuesto orgánico capaz de enlazarse con la glicoproteína ácido- α_1 (AGP) (b) se selecciona a partir del grupo que consiste en:

5 Nicergolina, Prazosina, Alfentanil, Cetamina, Etidocaína, Fentanil, Meperidina, Metadona, Fenilbutazona, Bupivacaína, Etidocaína, Fenciclidina, Lidocaína, Fenciclidina, Aprindina, Disopiramida, Quinidina, Verapamil, Eritromicina, Acenocumarol, Dipyridamol, PCR2362, Ticlopidina, Warfarina, Fenitoína, Car-
10 bamazepina, Naproxeno, Alprenolol, Metoprolol, Oxprenolol, Pindolol, Propranolol, Timolol, Progesterona, Cortexona, Cortisol, Testosterona, Estradiol, Prednisolona, Metocurina, d-Tubocurarina, Amitriptilina, Clorpromazina, Ciclazindol, Desmetilimipramina, Diazepam, Doxepina, Flurazepam, Flufenazina, Ha-
15 loperidol, Imipramina, Loxapina, Mianserina, Nortriptilina, Norzimelidina, Perazina, Perfenazina, Fenobarbital, Derivados de Fenotiazina, Promazina, Acepromazina, Protipendilo, Tioridazina, Tiotixeno, Triazolam, Trifluoperazina, Zimelidina, vitamina B₁₂, ácido fólico, DAPN, 1,8-Anilino-naftalensulfonato;
20 Aminopirina, Amoxapina, Bupropión, Maprolitina, Nomifensina, Trazodona, Ritodrina, Doxazosina, Trimazosina, Binedalina, Amsacrina, Apazona, SKF 525A, Ciclazindol, PCR 2362, Indometacina, Probenecida, Acido Retinoico, Sulfinpirazona, Tolmetina, Benoxaprofeno, Heparina, Sufentanil, Lofentanil, Metoclopramida,
25 Nicardipina, Pirmenol, mifepristona, RU 42 633, Aprindil,

Auramina O, Bepridil, Desipramina, Desmetilclomiprafina, Moxap-
prindina, Quinina, Lorcainida, Protipendilo, Protriptilina,
Trihexifenidilo, Biperideno, Maticualona, Difenhidramina, Glu-
tetimida, Clordiazepóxido, L-triptófano, Mepivacaína, Levometa-
5 dona, Opipramol, Trifluopromazina, Trimipramina, Fosfato de
tris-butoxietilo, estaurosporina, N-benzoil-estaurosporina, y
7-hidroxi-estaurosporina;

así como un metabolito de cualquiera de estos compuestos;

10 en donde cualquier componente (a) y (b) también puede es-
tar presente en la forma de una sal farmacéuticamente acepta-
ble, si está presente cuando menos un grupo formador de sal.

3. Una preparación en combinación de acuerdo con la rei-
vindicación 1, en donde se combinan (a) cuando menos un inhibi-
dor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o recep-
15 tora de Kit, seleccionado a partir del grupo que consiste en 1-
(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)-ftalazina, (R)-6-(4-hidro-
xifeil)-4-[(1-fenil-etil)-amino]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina, y
4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pi-
rimidin-2-ilamino]fenil]-benzamida; o una sal farmacéuticamente
20 aceptable de cualquiera o más de estos compuestos; y

(b) cuando menos un compuesto capaz de enlazarse con la
glicoproteína ácida- α_1 , seleccionado a partir del grupo que
consiste en un antibiótico, estaurosporina, N-benzoil-
estaurosporina, y 7-hidroxi-estaurosporina, o una sal farmacéu-
25 ticamente aceptable de las mismas.

4. Una preparación en combinación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (a) el inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit es 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y (b) el compuesto capaz de enlazarse con la glicoproteína ácido- α_1 es eritromicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

5. Un producto que comprende:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

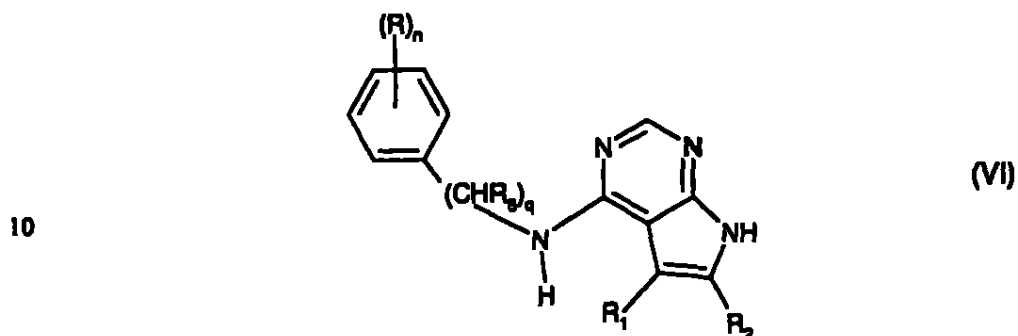
(b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 ,

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,

en la presencia o en ausencia de uno o más materiales de vehículo farmacéuticamente aceptables, como una preparación en combinación para su uso simultáneo o cronológicamente escalonado dentro de un período de tiempo que sea suficientemente pequeño para que los compuestos de tanto el componente (a) como del componente (b), mejoren la actividad antiproliferativa del compuesto (a) contra las células proliferantes, especialmente en un paciente, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que responda a este compuesto.

6. El producto de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit, se selecciona a partir del grupo que consiste en:

- 5 (i) un compuesto de 7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina de la fórmula VI:



en donde:

q es 0 ó 1,

15 n es de 1 a 3 cuando q es 0, o n es de 0 a 3 cuando q es 1,

R es halógeno, alquilo inferior, hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, alcoxilo inferior, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior, carbamóilo, N-alquilcarbamóilo inferior, N,N-dialquilcarbamóilo inferior, ciano, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, o trifluorometilo, siendo posible, cuando estén presentes varios radicales R en la molécula, que estos radicales sean idénticos o diferentes;

25 a) R₁ y R₂ son cada uno independientemente del otro:

- α) fenilo sustituido por carbamoilmetoxilo, carboximeto-
xilo, benzoiloxicarbonilmetoxilo, alcoxicarbonilmetoxilo infe-
rior, fenilo, amino, alcanoilamino inferior, alquilamino infe-
rior, N,N-dialquilamino inferior, hidroxilo, alcanoiloxilo in-
5 ferior, carboxilo, alcoxicarbonilo inferior, carbamoílo, N-
alquilcarbamoílo inferior, N,N-dialquilcarbamoílo inferior,
ciano, o por nitro;
- β) hidrógeno;
- γ) piridilo insustituido o sustituido por halógeno o por
10 alquilo inferior;
- δ) N-bencilpiridinio-2-ilo; naftilo; ciano; carboxilo;
alcoxicarbonilo inferior; carbamoílo; N-alquilcarbamoílo infe-
rior; N,N-dialquilcarbamoílo inferior; N-bencilcarbamoílo; for-
milo; alcanóilo inferior; alquenilo inferior; alqueniloxilo in-
15 ferior; o
- ε) alquilo inferior sustituido por:
- εα) halógeno, amino, alquilamino inferior, piperazino,
dialquilamino inferior,
- 20 εβ) fenilamino que está insustituido o sustituido en la
fracción de fenilo por halógeno, alquilo inferior, hidroxilo,
alcanoiloxilo inferior, alcoxilo inferior, carboxilo, alcoxi-
carbonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior,
N,N-dialquilcarbamoílo inferior, ciano, amino, alcanoilamino
25 inferior, alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, o

por trifluorometilo,

ey) hidroxilo, alcoxilo inferior, ciano, carboxilo, alcoxicar-
bonilo inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-
dialquilcarbamoílo inferior, mercapto, o

5 eδ) por un radical de la fórmula $R_3-S(O)_m-$ en donde R_3 es
alquilo inferior, y m es 0, 1 ó 2, o

 b) cuando q es 1, uno de los radicales R_1 y R_2 es alquilo
inferior insustituido o fenilo insustituido, y el otro de los
radicales R_1 y R_2 tiene uno de los significados dados anterior-
10 mente en el párrafo a), con la excepción de hidrógeno, o

 c) R_1 y R_2 son juntos 1,4-alcadienileno de 4 a 10 átomos
de carbono sustituido por amino, alcanoilamino inferior, alqui-
lamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, nitro, halógeno,
hidroxilo, alcanoiloxilo inferior, carboxilo, alcoxicarbonilo
15 inferior, carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, N,N-
dialquilcarbamoílo inferior, o por ciano, o son aza-1,4-
alcadienileno que tiene hasta 9 átomos de carbono, o

 d) cuando q es 1, R_1 y R_2 son cada uno independientemente
del otro, alquilo inferior insustituido o fenilo insustituido,
20 o tienen uno de los significados dados anteriormente en el pá-
rrafo a), y

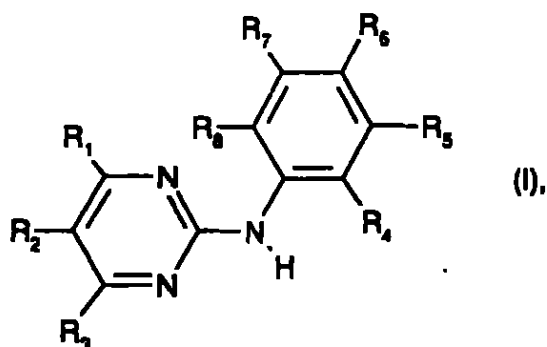
R_4 es hidrógeno, alquilo inferior, alcoxicarbonilo inferior,
carbamoílo, N-alquilcarbamoílo inferior, o N,N-
dialquilcarbamoílo inferior,

25 o una sal del mismo;

y

(ii) un derivado de N-fenil-2-pirimidinamina de la fórmula

I:

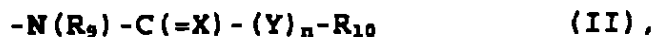


10 en donde:

R_1 es pirazinilo, 1-metil-1H-pirrolilo, fenilo sustituido por amino o por aminoalquilo inferior, en donde el grupo amino en cada caso está libre, alquilado, o acilado, 1H-indolilo ó 1H-imidazolilo enlazado en un átomo de carbono del anillo de 5 miembros, o piridilo insustituido o sustituido por alquilo inferior enlazado en un átomo de carbono del anillo, e insustituido o sustituido en el átomo de nitrógeno por oxígeno,

R_2 y R_3 son cada uno independientemente del otro, hidrógeno o alquilo inferior,

20 uno o dos de los radicales R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , y R_8 son cada uno nitro, alcoxilo inferior sustituido por flúor, o un radical de la fórmula II:



25 en donde:

R₃ es hidrógeno o alquilo inferior,

X es oxo, tio, imino, N-alquilimino inferior, hidroximino, u O-alquilhidroximino inferior,

Y es oxígeno o el grupo NH,

5 n es 0 ó 1, y

R₁₀ es un radical alifático que tiene cuando menos 5 átomos de carbono, o un radical aromático, aromático-alifático, cicloalifático, cicloalifático-alifático, heterocíclico, o heterocíclico-alifático, y los radicales restantes R₄, R₅, R₆, R₇, y 10 R₈ son cada uno independientemente de los otros, hidrógeno, alquilo inferior que está insustituido o sustituido por amino libre o alquilado, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, o por morfolinilo, o alcanoílo inferior, trifluorometilo, hidroxilo libre, eterificado o esterificado, amino libre, alquilado 15 o acilado, o carboxilo libre o esterificado, o

una sal de estos compuestos que tengan cuando menos un grupo formador de sal;

y el compuesto orgánico capaz de enlazarse con la glicoproteína ácido- α_1 (AGP) (b) se selecciona a partir del grupo 20 que consiste en:

Nicergolina, Prazosina, Alfentanil, Cetamina, Etidocaína, Fentanil, Meperidina, Metadona, Fenilbutazona, Bupivacaína, Etidocaína, Fenciclidina, Lidocaína, Fenciclidina, Aprindina, Disopiramida, Quinidina, Verapamil, Eritromicina, Acenocumarol, 25 Dipiridamol, PCR2362, Ticlopidina, Warfarina, Fenitoína, Car-

bamazepina, Naproxeno, Alprenolol, Metoprolol, Oxprenolol, Pin-
 dolol, Propranolol, Timolol, Progesterona, Cortexona, Cortisol,
 Testosterona, Estradiol, Prednisolona, Metocurina, d-
 Tubocurarina, Amitriptilina, Clorpromazina, Ciclazindol, Desme-
 5 tilimipramina, Diazepam, Doxepina, Flurazepam, Flufenazina, Ha-
 loperidol, Imipramina, Loxapina, Mianserina, Nortriptilina,
 Norzimelidina, Perazina, Perfenazina, Fenobarbital, Derivados
 de Fenotiazina, Promazina, Acepromazina, Protipendilo, Tiorida-
 zina, Tiotixeno, Triazolam, Trifluoperazina, Zimelidina, vita-
 10 mina B₁₂, ácido fólico, DAPN, 1,8-Anilino-naftalensulfonato;
 Aminopirina, Amoxapina, Bupropión, Maprolitina, Nomifensina,
 Trazodona, Ritodrina, Doxazosina, Trimazosina, Binedalina,
 Amsacrina, Apazona, SKF 525A, Ciclazindol, PCR 2362, Indometa-
 cina, Probenecida, Acido Retinoico, Sulfinpirazona, Tolmetina,
 15 Benoxaprofeno, Heparina, Sufentanil, Lofentanil, Metocloprami-
 da, Nicardipina, Pirmenol, mifepristona, RU 42 633, Aprindil,
 Auramina O, Bepridil, Desipramina, Desmetilclomipramina, Moxa-
 prindina, Quinina, Lorcainida, Protipendilo, Protriptilina,
 Trihexifenidilo, Biperideno, Matacualona, Difenhidramina, Glu-
 20 tetimida, Clordiazepóxido, L-triptófano, Mepivacaína, Levometa-
 dona, Opipramol, Trifluopromazina, Trimipramina, Fosfato de
 tris-butoxietilo, estaurosporina, N-benzoil-estaurosporina, y
 7-hidroxi-estaurosporina;

así como un metabolito de cualquiera de estos compuestos;
 25 en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede

estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal.

7. El producto de acuerdo con la reivindicación 5, en donde: (a) el inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit se selecciona a partir del grupo que consiste en 1-(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)-ftalazina, (R)-6-(4-hidroxifeil)-4-[(1-fenil-etil)-amino]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina, y 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]-benzamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera o más de estos compuestos; y

(b) el compuesto capaz de enlazarse con la glicoproteína ácido- α_1 se selecciona a partir del grupo que consiste en un antibiótico, estaurosporina, N-benzoil-estaurosporina, y 7-hidroxi-estaurosporina, o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera o más de estos compuestos.

8. El producto de acuerdo con la reivindicación 5, en donde (a) el inhibidor de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit es 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]-benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y (b) el compuesto capaz de enlazarse con la glicoproteína ácido- α_1 es eritromicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

9. El uso de una combinación de: (a) cuando menos un

inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

(b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 ,

5 en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,

para producir una preparación farmacéutica para utilizarse como composiciones contra una enfermedad proliferativa que pueda ser tratada mediante la administración de un inhibidor de
10 cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit.

10. Un método para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que se pueda tratar mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R y/o receptora
15 de Kit, en donde:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

(b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 (AGP),

20 se administran a un mamífero en combinación con una cantidad que sea conjuntamente efectiva terapéuticamente contra una enfermedad proliferativa que se pueda tratar mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, en donde cualquier componente (a)
25 y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal

farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal.

11. Una preparación farmacéutica que comprende una cantidad, que es conjuntamente efectiva para el tratamiento de una enfermedad proliferativa que puede ser tratada mediante la administración de un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, de:

(a) cuando menos un inhibidor de cinasa de tirosina de abl, de PDGF-R, y/o receptora de Kit, y

10 (b) cuando menos un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicoproteína ácida- α_1 ,

en donde cualquier componente (a) y/o (b) también puede estar presente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, si está presente cuando menos un grupo formador de sal,

15 con uno o más materiales de vehículo farmacéuticamente aceptables.

RESUMEN

Esta invención se refiere a combinaciones de un inhibidor de
5 cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF, y/o receptora de
Kit, con un compuesto orgánico capaz de enlazarse con glicopro-
teína ácida- α_1 (AGP), así como a preparaciones farmacéuticas
y/o terapias, en relación con estados de enfermedad que respon-
dan a la inhibición de cinasa de tirosina de abl, receptora
10 PDGF, y/o receptora de Kit. En particular, la invención se re-
fiere a productos o combinaciones que comprenden un inhibidor
de cinasa de tirosina de abl, receptora de PDGF y/o receptora
de Kit con un compuesto orgánico capaz de enlazarse con AGP, en
una combinación fija, o para su administración cronológicamente
15 escalonada o simultánea, y al uso combinado de ambas clases de
compuestos, ya sea en una combinación fija, o para su adminis-
tración cronológicamente escalonada o simultánea, para el tra-
tamiento de enfermedades proliferativas, especialmente enferme-
dades tumorales especialmente aquéllas que se puedan tratar me-
20 diante la inhibición de la actividad de cinasa de tirosina de
abl, receptora de PDGF, y/o receptora de Kit.

* * * * *

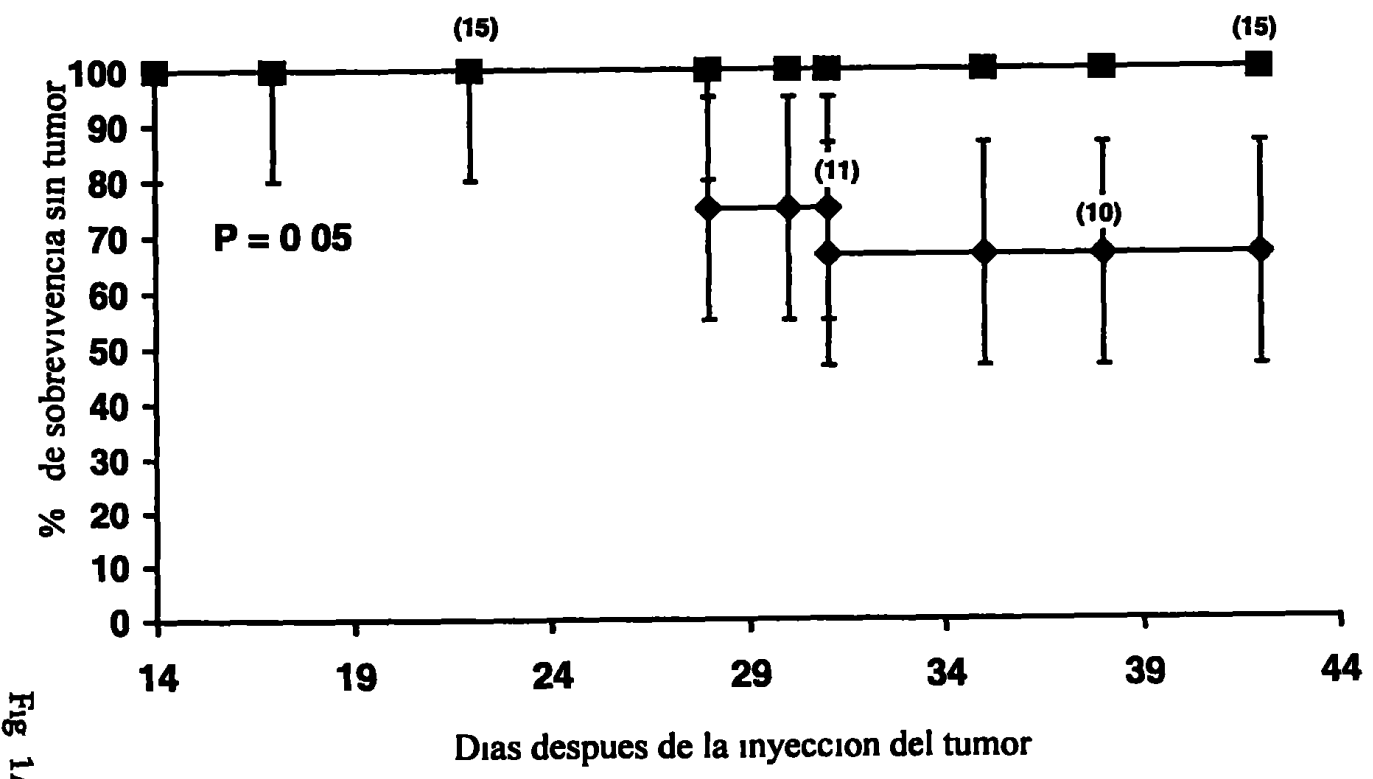


Fig 1A

1/17

116

117

117

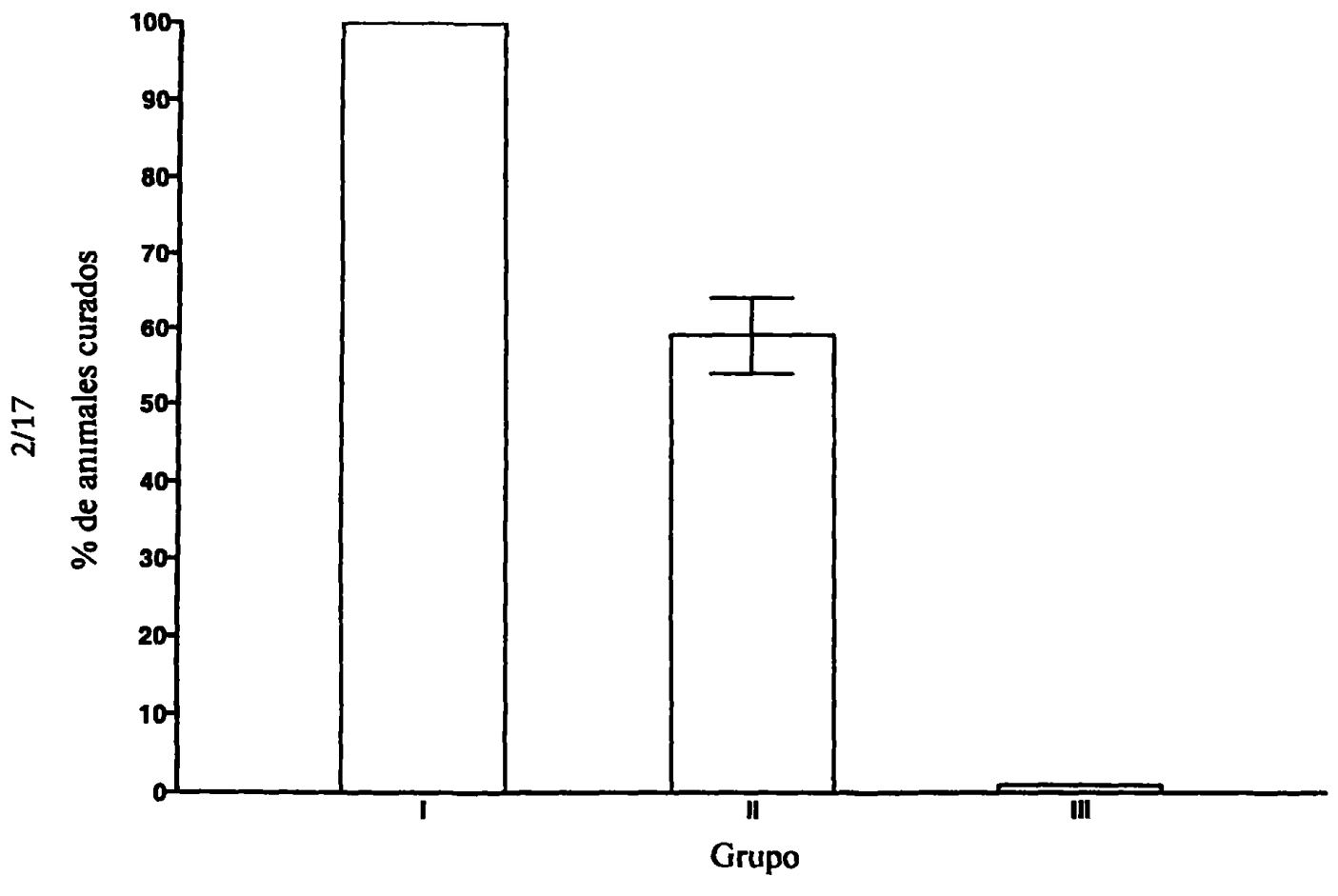


Fig 1B

2/8

11/8

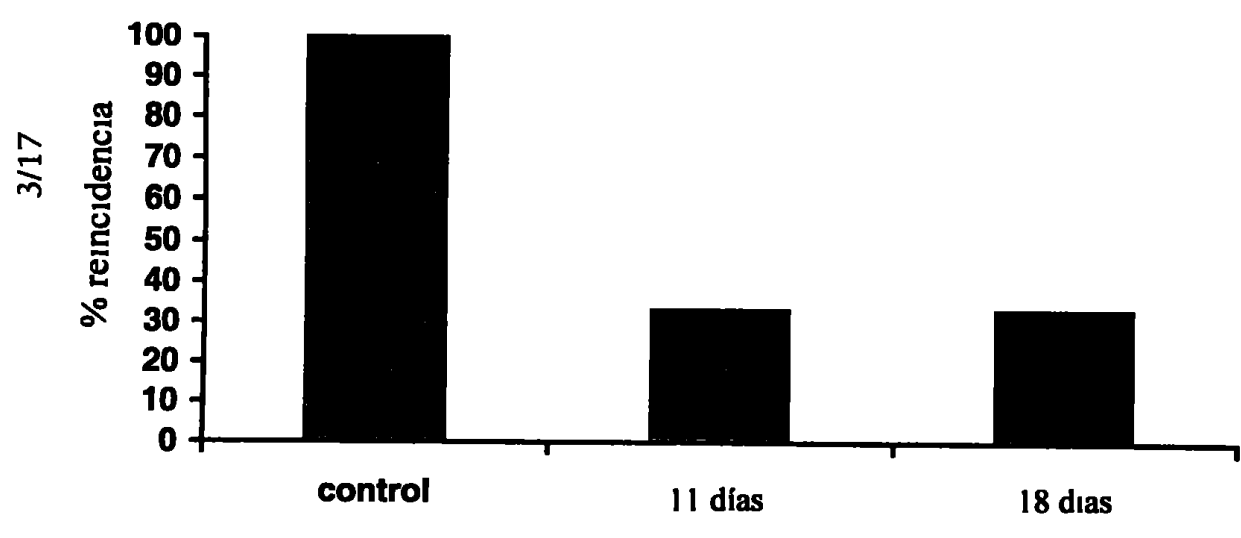


Fig 1C

119

119

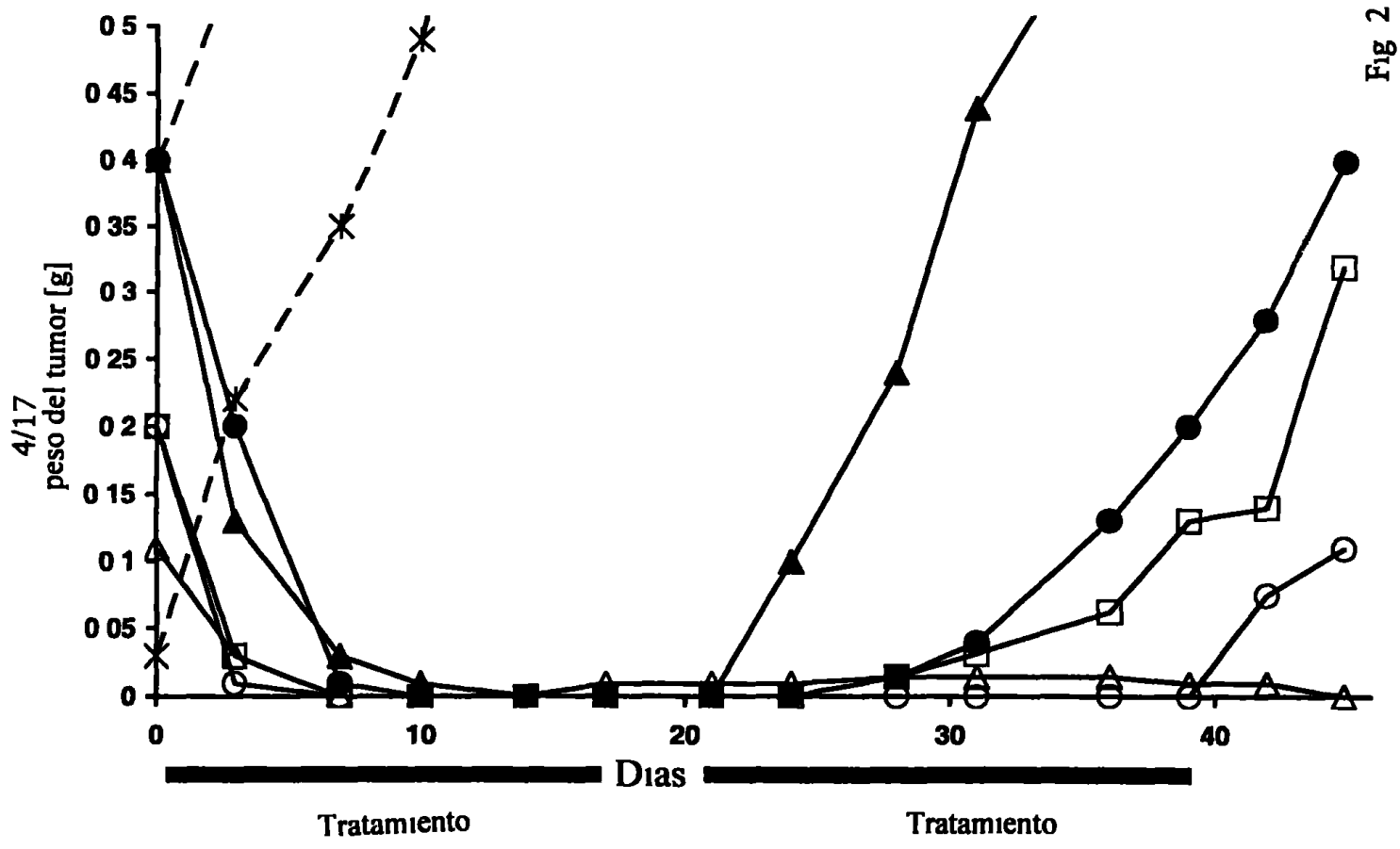
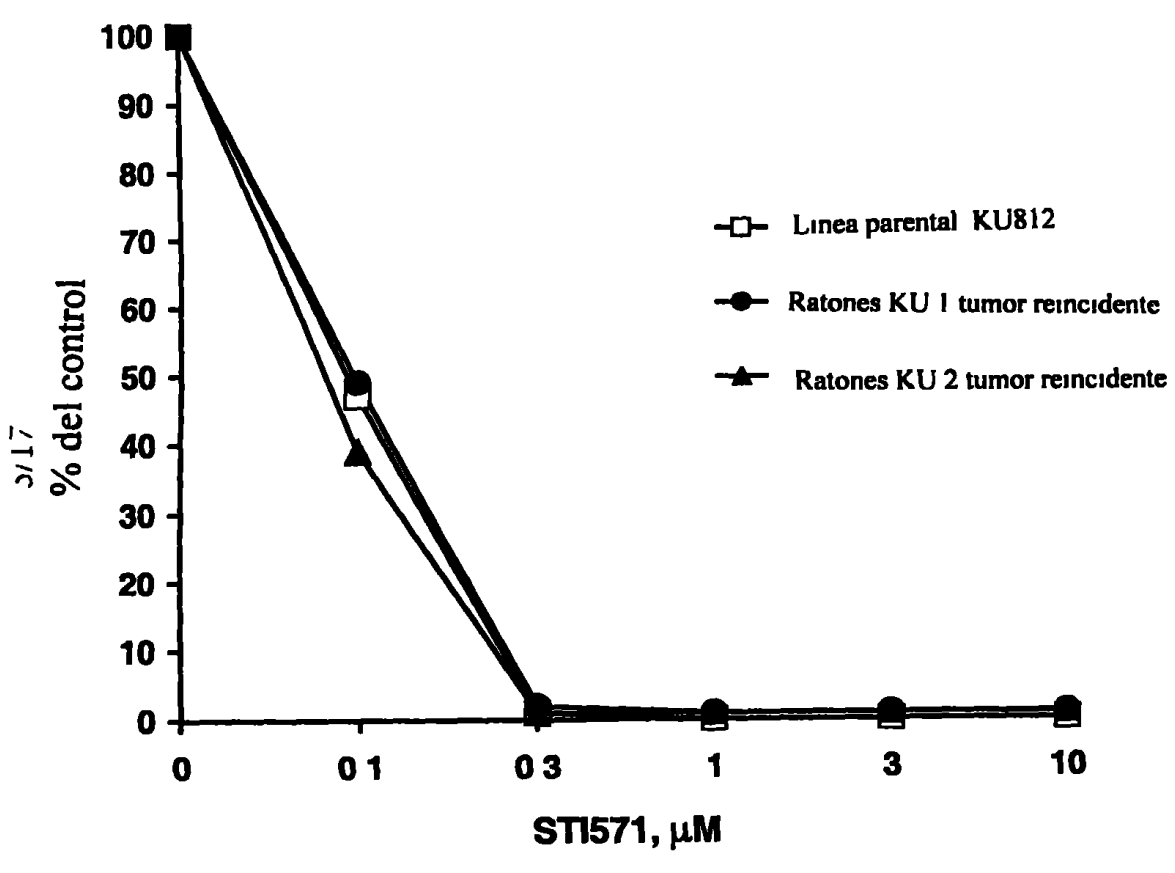


Fig 2

221

120

Fig 3



6/17

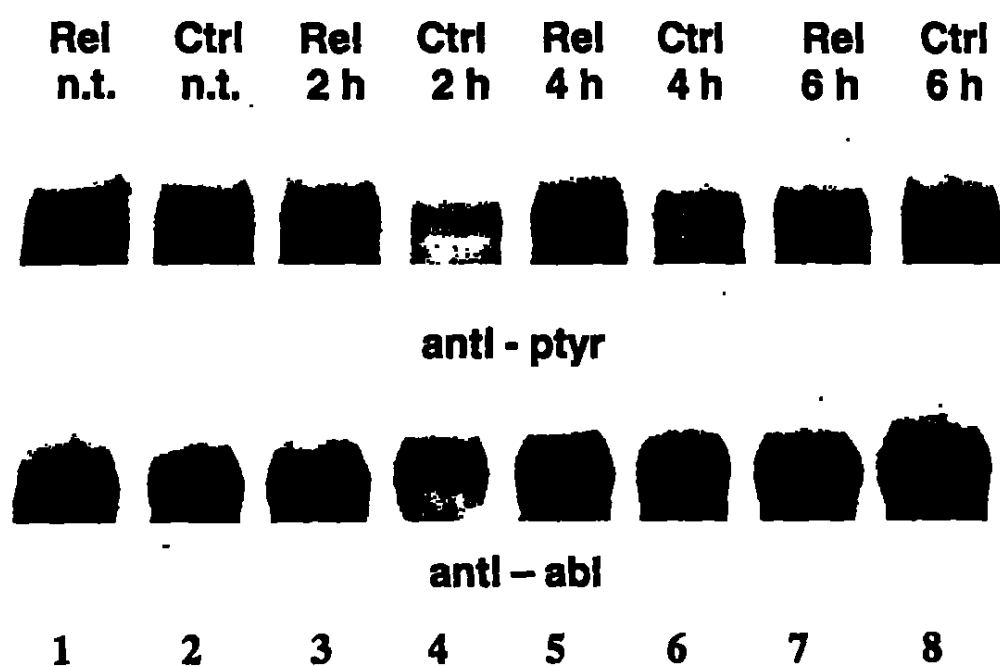


Fig. 4

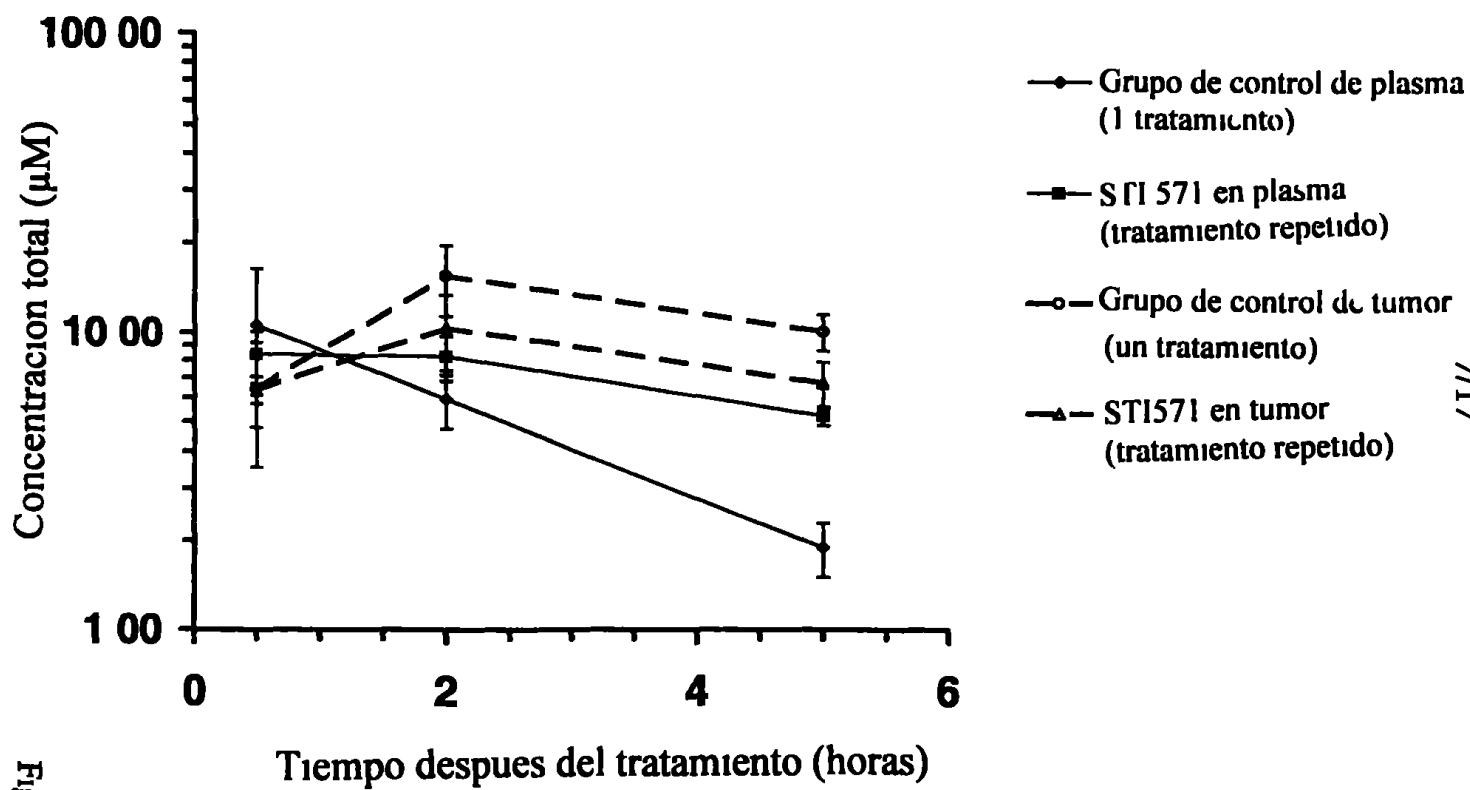
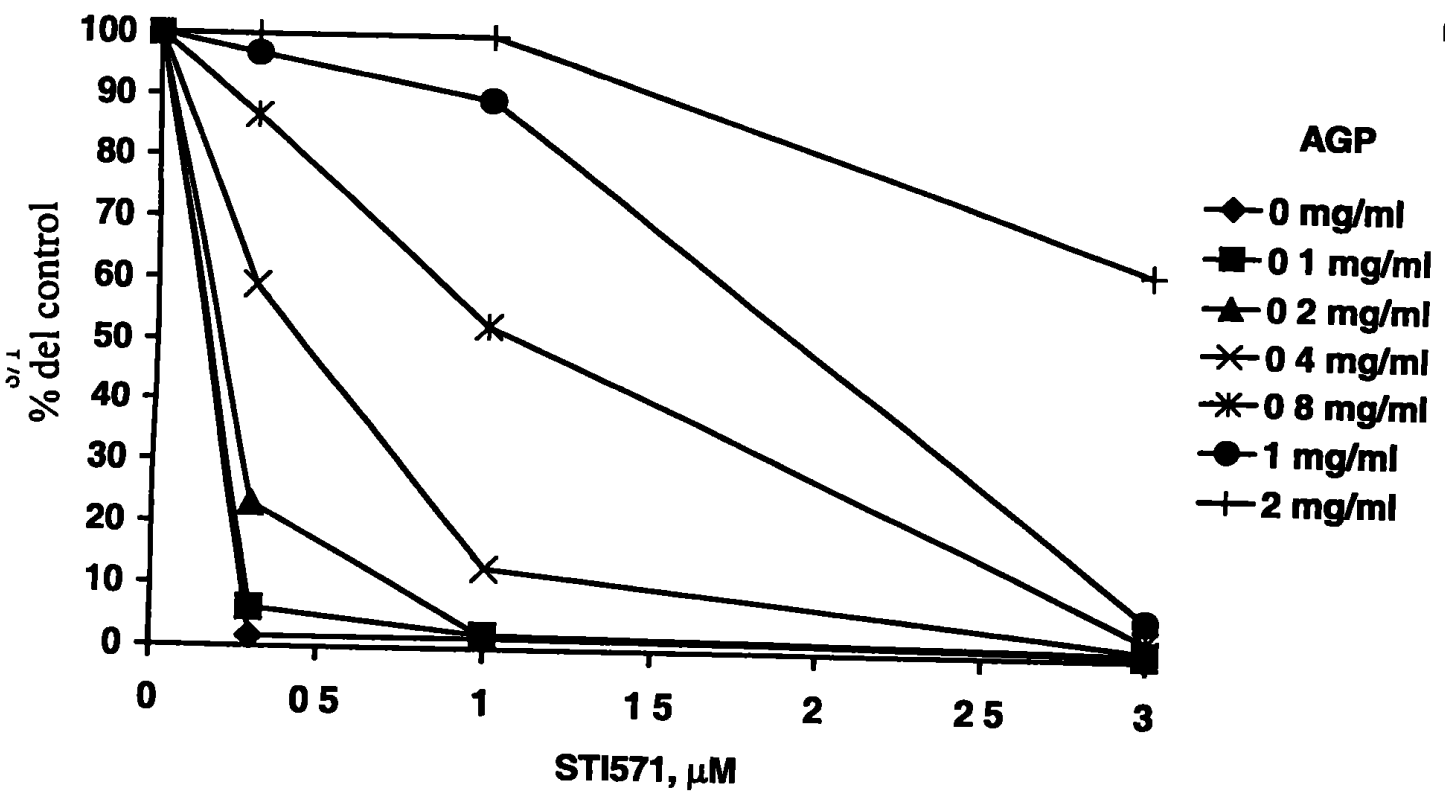


Fig. 5

7/17

122

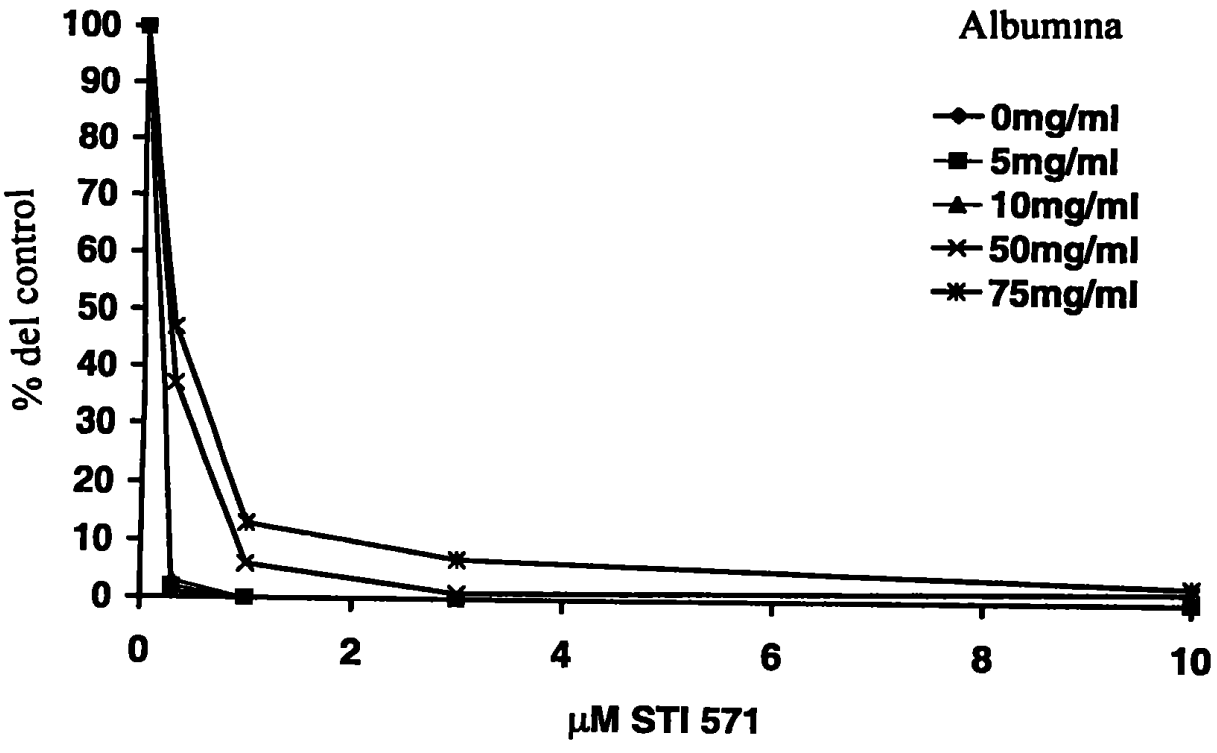
Fig 6A



124

124

Fig 6B



125

125

Fig 7

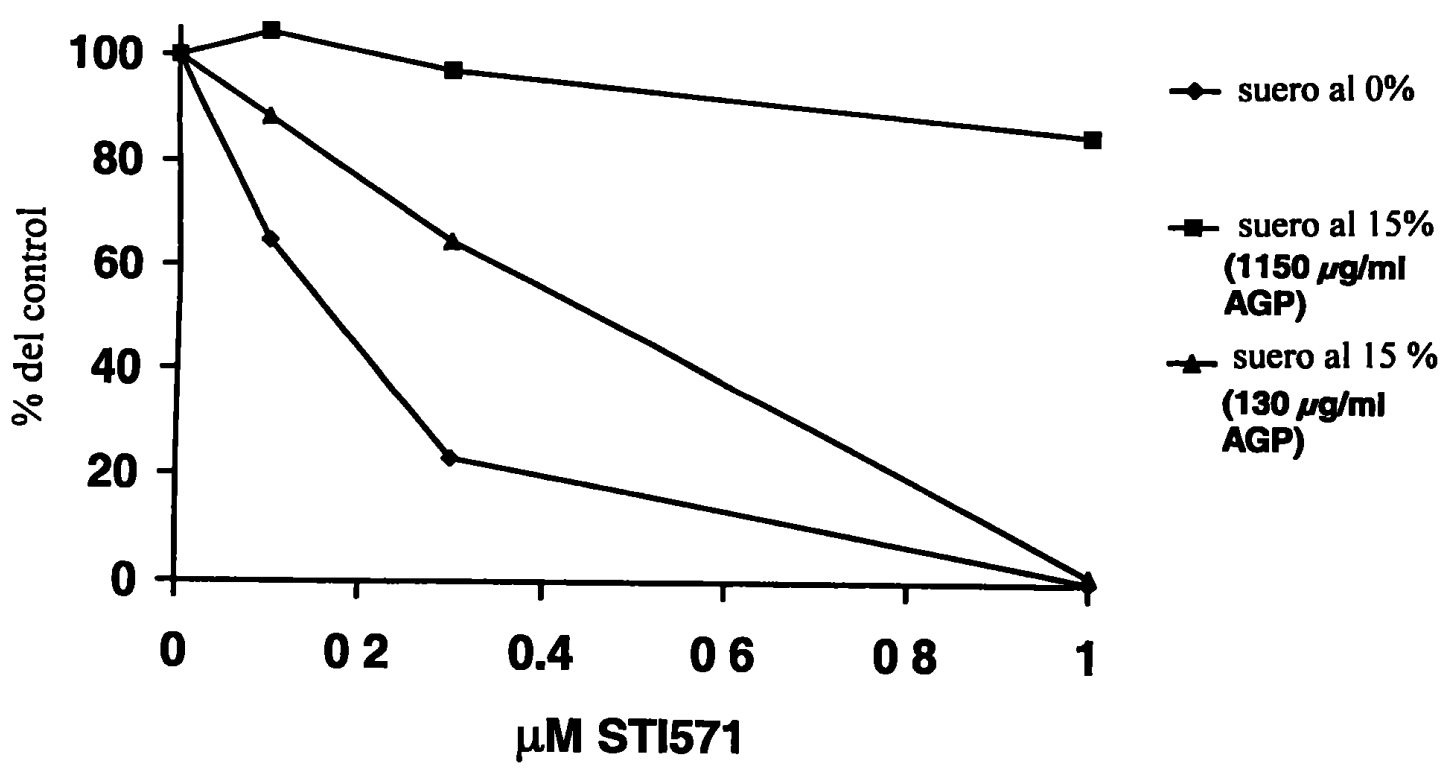
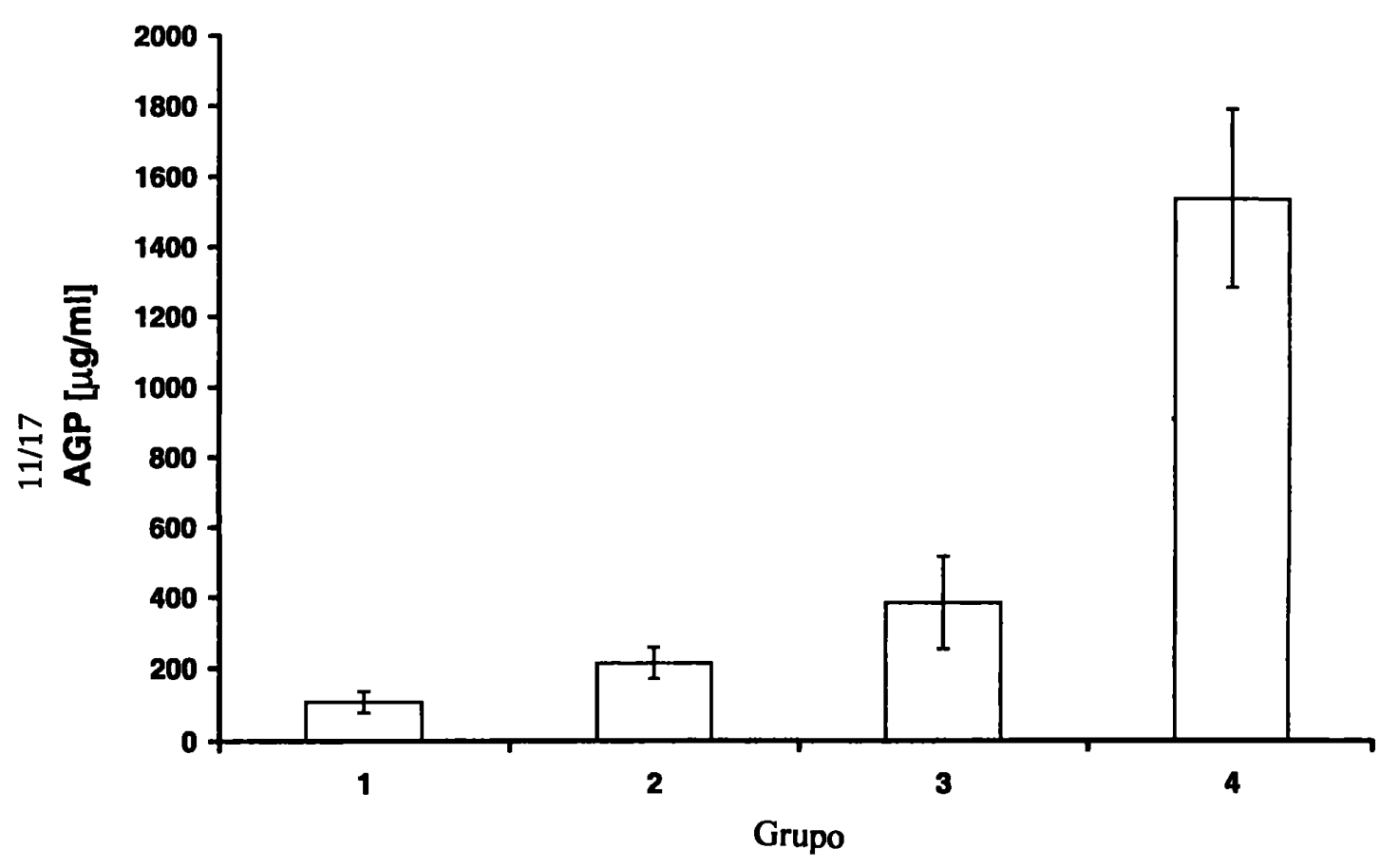


Fig 8A



12/17

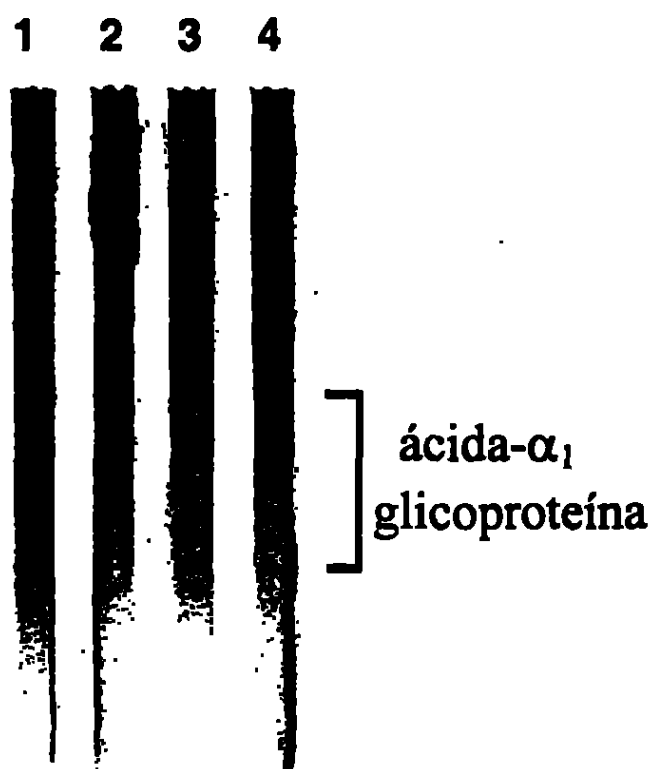
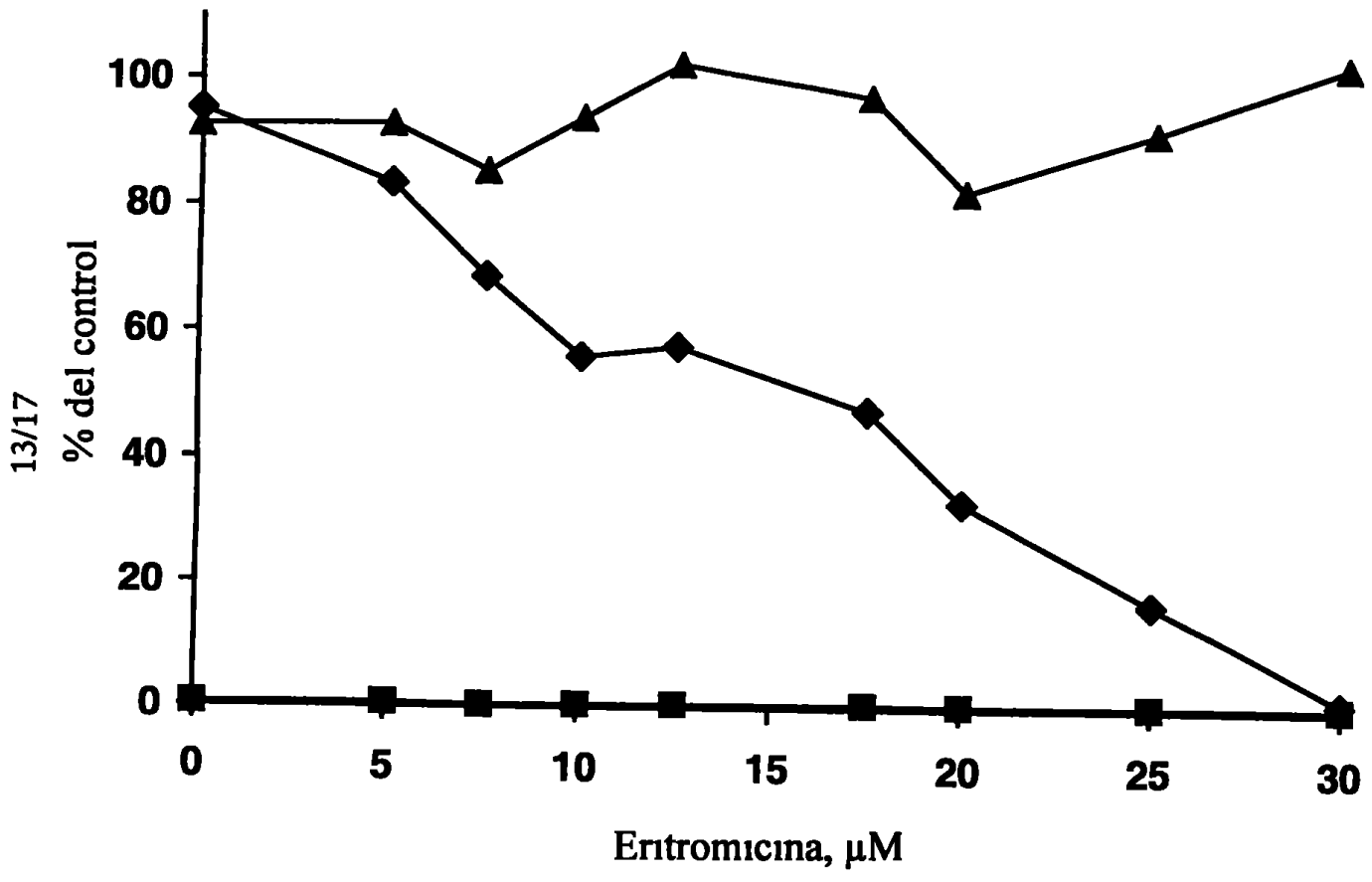


Fig. 8B

Fig 9



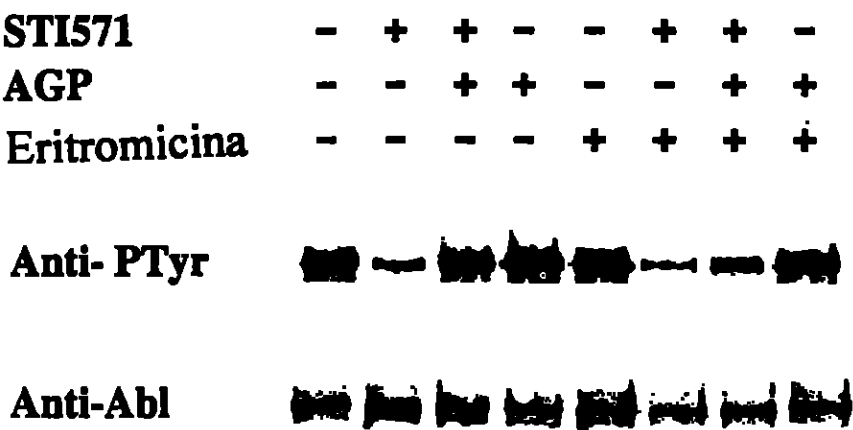
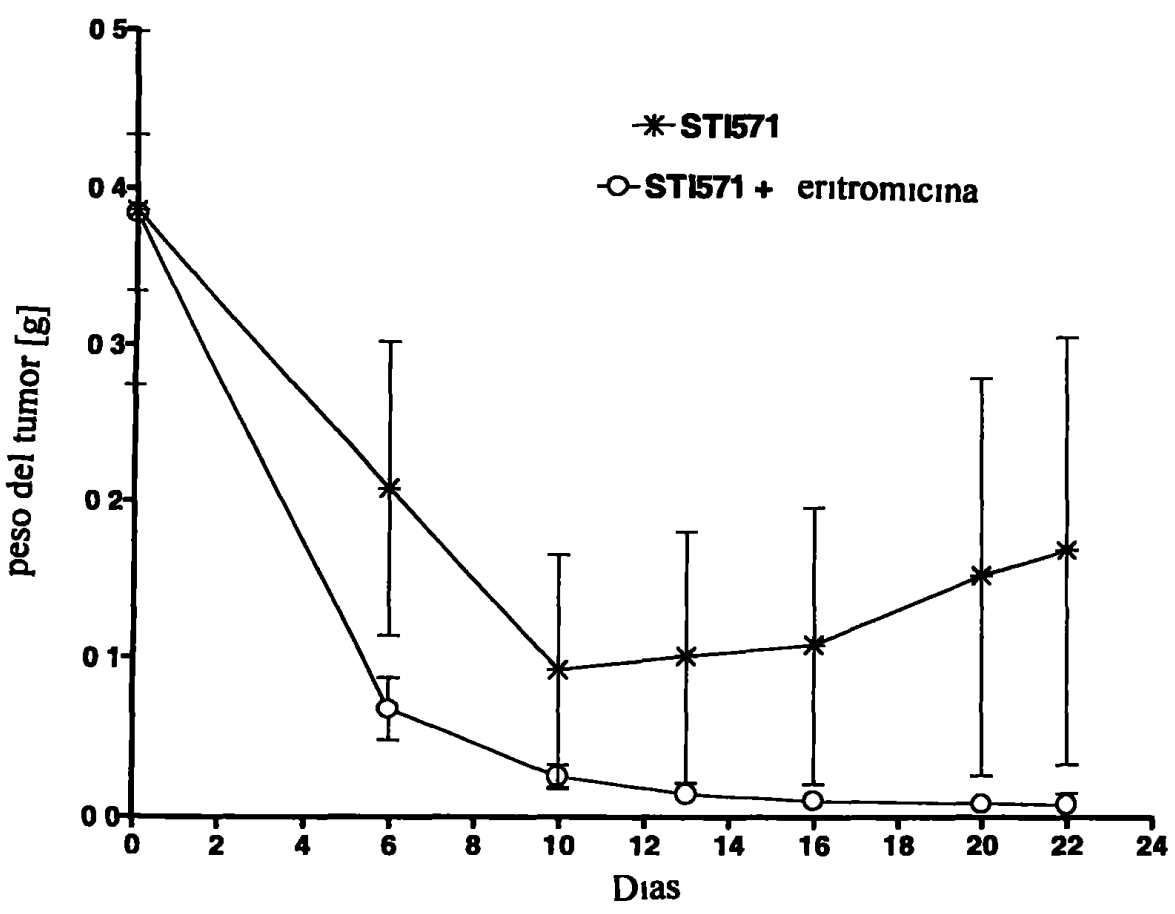


Fig. 10

Fig 11A

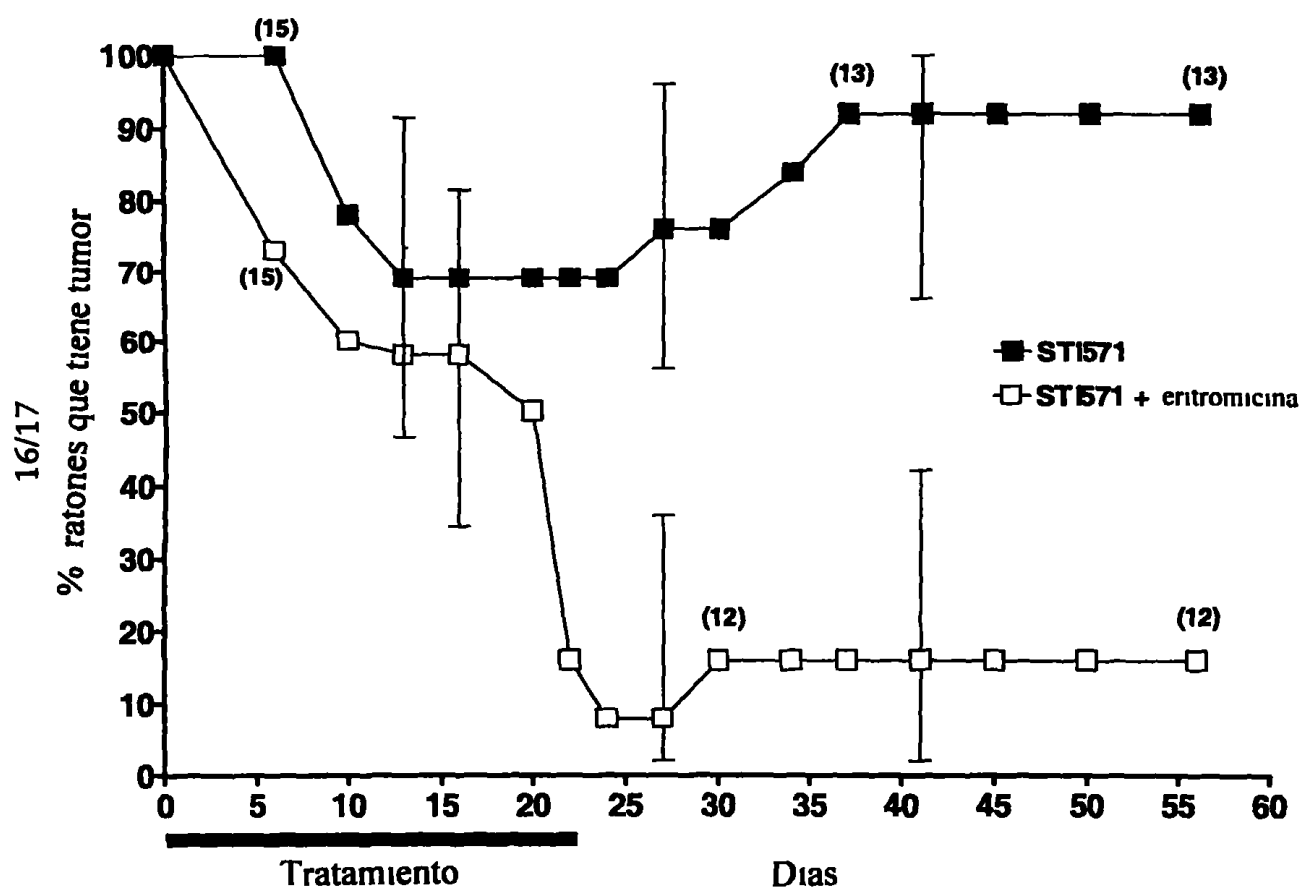
15/17



131

131

Fig 11B



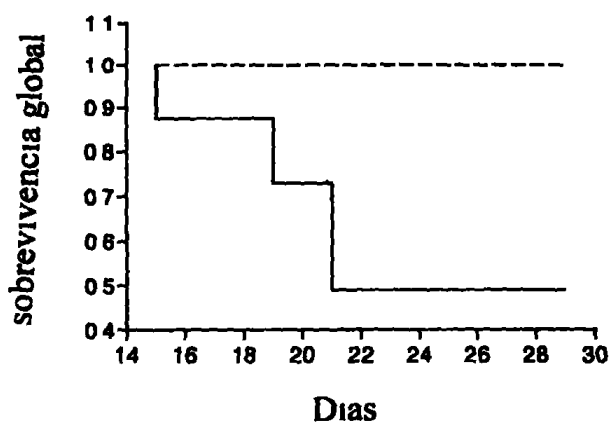


Fig 12

folio 133
Extracto para publicación
18-10-2002

Folios 134 y 135
Jorge
A.

REQUISITOS MINIMOS PARA ADI

Indicaciones: 00077424 00000000 Folios: 135
Fecha (ALD): 2010-12-22 16:05:22
Trámite: 1 (12) PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Superintendencia DNEO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCION [X]

MODELO DE UTILIDAD []

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X]
- Descripción de la invención [X]
- Dibujos de ser estos pertinentes []
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas [X]

COMPLETA [X]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. []
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño. []
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de trazado. []
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. []
- Representación gráfica del esquema de trazado []
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha: _____

Carrera 13 No. 27-08 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@dic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

INFORME DE PROTOCOLO

Expediente 00-97404.

Fecha: 21 de Marzo del 2001.

Se certifica que:

Desde fecha 16 de Abril de 1997,
del folio 90.643 al folio 90.650
del libro de Protocolo N° 311,
obra el poder N° 17398 conferido por
NOVARTIS AG (NOVARTIS SA) (NOVARTIS INC)
domiciliado(a) en Basilea,
Suiza al doctor Jimena
Escobar Uribe y/o Ignacio Escobar Uribe.

Facultad para desistir y sustituir si.

Revisado 202022.

2020
Bogotá, D.C.

Doctora
JIMENA ESCOBAR URIBE
Apoderada

REFERENCIA:	Radicación No.	00-97404
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio No.	0884
	Folios	001

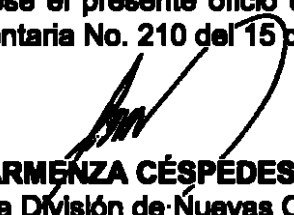
Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que:

- Debe allegar copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente otorgado por el inventor al solicitante o a su causante (art. 28-k, Dec 486/2000).

- El interesado debe informar la dirección del solicitante, debido a que en la solicitud no aparece la misma. (Art. 27-b, D 486/00).

En cumplimiento del artículo 39 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el artículo 8 de la Resolución Reglamentaria No. 210 del 15 de enero del 2001.

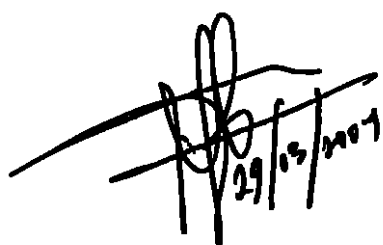

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 29 MAR. 2001.

Se recuerda al interesado que debe presentar, dentro de los dieciséis meses siguientes contados a partir de la fecha de presentación de la solicitud cuya prioridad se invoca, copia de la misma certificada por la autoridad que la explotó y, en los casos en que haya lugar, la traducción simple del capítulo reivindicatorio. El incumplimiento de este plazo, acarreará la pérdida de la prioridad invocada.

202027/202022

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: Info@slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia


29/05/2007