

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

ABOGADOS

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

124

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 03-087918- -00007-0000

Fecha: 2007-08-06 15:47:19 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 44

Re: P1.-WYETH.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para
"COMBINACIONES ANTINEOPLÁSICAS TALES COMO RAPAMICINA
JUNTO CON GEMCITABINA O FLUOROURACIL".-Clase A61K 45/06.-
Expediente número 03-087.918.-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista el 11 de Mayo de 2007.

2. Con el fin de dar respuesta a las objeciones expuestas por el señor Examinador en su Concepto Técnico número **0688** bajo los acápites de Claridad de la Solicitud, Novedad y Nivel Inventivo, me permito presentar las siguientes modificaciones y argumentos técnicos, por medio de los cuales no sólo se superan dichas objeciones, sino que además se demuestra en forma contundente la patentabilidad de la presente solicitud.

3. **CORRECCIÓN A LA DESCRIPCIÓN**

Debido a un error involuntario en la traducción en la página 10 de la descripción no se incluyó la estructura del núcleo de rapamicina. Teniendo en cuenta lo anterior, me permito presentar nuevamente copia de la toda la descripción de la solicitud bajo estudio, donde se incluye la estructura mencionada anteriormente. Es importante recalcar que dicha corrección no amplía de ninguna manera la materia objeto de la invención.

4. **CLARIDAD DE LA SOLICITUD**

El señor Examinador ha objetado la claridad de la presente solicitud con base en los siguientes argumentos:

- (i) "..., los términos "inhibidor *mTOR*", "agente antineoplásico antimetabolito" y "modificante bioquímico" son muy amplios y pueden comprender compuestos que no se encuentran revelados en la descripción"; y
- (ii) "La reivindicación 11 caracteriza un producto por el tipo de enfermedad al cual va destinado, lo cual no identifica de ninguna manera la materia técnica que se desea proteger".



Con el fin de dar respuesta a las anteriores objeciones expuestas por el señor Examinador, me permito manifestar que **debidamente autorizado por mí representado**, es deseo del solicitante **eliminar las reivindicaciones 3, 4, 10, 11, 12 y 16** del capítulo reivindicatorio originalmente presentado y por tanto presentar un nuevo capítulo reivindicatorio conformado por 11 reivindicaciones, en el que adicionalmente se han eliminado los términos: "inhibidor *mTOR*", "agente antineoplásico antimetabolito" y "modificante bioquímico", considerados demasiado amplios, y se han reemplazado con las nuevas expresiones "rapamicina", "compuesto seleccionado de 5-fluorouracil y gemcitabina" y "compuesto seleccionado de leucovorina y levofolinato", respectivamente. De esta manera, se superan en forma definitiva las observaciones que en relación con la Claridad de la solicitud fueron expuestas por el señor examinador en su Concepto Técnico.

Sobre este particular, a continuación me permito señalar el sustento adecuado para el nuevo capítulo reivindicatorio que comprende 11 reivindicaciones:

- (i) En la nueva reivindicación 1, correspondiente a la reivindicación 1 originalmente presentada, se reemplazaron las frases "un inhibidor *mTOR*" y "un agente antineoplásico antimetabolito" por los términos "una rapamicina" y "un compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina", respectivamente. Este reemplazo constituye una clara limitación del alcance de la reivindicación en cuestión, pues se especifican totalmente los términos presentados originalmente.
- (ii) En la nueva reivindicación 2, correspondiente a la reivindicación 2 originalmente presentada, se reemplazó la frase "agente modificador bioquímico", por "compuesto seleccionado entre leucovorina y levofolinato". Este reemplazo constituye una clara limitación del alcance de la reivindicación en cuestión, pues se especifica totalmente el término presentado originalmente.
- (iii) Las nuevas reivindicaciones 3 a 5 corresponden a las reivindicaciones 5 a 7 presentadas originalmente.
- (iv) En la nueva reivindicación 6, correspondiente a la reivindicación 8 originalmente presentada, se reemplazaron las frases "un inhibidor *mTOR*" y "un agente antineoplásico antimetabolito" por los términos "una rapamicina" y "un compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina", respectivamente. Este reemplazo constituye una clara limitación del alcance de la reivindicación en cuestión, pues se especifican totalmente los términos presentados originalmente.
- (v) En la nueva reivindicación 7, correspondiente a la reivindicación 9 originalmente presentada, se reemplazó la frase "agente modificador bioquímico", por "compuesto seleccionado entre leucovorina y levofolinato". Este reemplazo constituye una clara

176

limitación del alcance de la reivindicación en cuestión, pues se especifica totalmente el término presentado originalmente.

- (vi) Las nuevas reivindicaciones 8 a 10 corresponden a las reivindicaciones 13 a 15 presentadas originalmente.
- (vii) En la nueva reivindicación 11, correspondiente a la reivindicación 17 originalmente presentada, se reemplazaron las frases "un inhibidor *mTOR*" y "un agente antineoplásico antimetabolito" por los términos "una rapamicina" y "un compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina", respectivamente. Este reemplazo constituye una clara limitación del alcance de la reivindicación en cuestión, pues se especifican totalmente los términos presentados originalmente.

De conformidad con las anteriores modificaciones, es claro que mediante la cancelación de las expresiones y las reivindicaciones mencionadas se han superado plenamente todas las observaciones respecto a la falta de claridad de la solicitud que se han presentado por parte del señor Examinador en su Concepto Técnico número **0688**. Adicionalmente, me permito resaltar que dichas modificaciones **no amplían de ninguna forma** el alcance de la solicitud tal como fue originalmente presentada, ya que las mismas se realizan con el fin de dar respuesta a las objeciones del señor Examinador y constituyen en sí mismas una limitación de la materia respecto al texto inicialmente presentado ante ese Despacho.

5. OBJETO DE LA INVENCION (Antecedentes técnicos)

La presente invención se refiere a combinaciones farmacéuticas útiles en quimioterapias antineoplásicas, las cuales incluyen un inhibidor *mTOR* (por ejemplo, la rapamicina 42-éster con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico) y un agente antineoplásico antimetabolito.

En el estado de la técnica se reconoce que generalmente, al suministrar quimioterapia al paciente, se emplean múltiples agentes que presentan diferentes modalidades de acción. En este sentido, las combinaciones de la presente invención pueden ser empleadas como parte de "cocteles" de quimioterapia, que contienen eventualmente uno o más agentes antineoplásicos adicionales dependiendo de la naturaleza de la neoplasia a ser tratada.

En el contexto de la solicitud bajo estudio, es importante resaltar que el *mTOR* es un objetivo mamífero de la rapamicina, también conocido como la proteína asociada de la FKBP12-rapamicina [FRAP]. La inhibición de la actividad de la quinasa del *mTOR* inhibe una variedad de rutas en la traducción de señales, incluyendo la proliferación celular estimulada por citoquina, la traducción de *ARNMs* en varias proteínas clave que regulan la



fase G1 del ciclo celular y la transcripción inducida IL-2, lo que conduce a la inhibición de la progresión del ciclo celular desde G1 a S.

En este sentido, el *mTOR* regula la actividad de por lo menos dos de las proteínas involucradas en la traducción de las proteínas reguladoras del ciclo celular específico [Burnett, P. E., PNAS 95: 1432 (1998) e Isotani, S., J. Biol. Chem. 274: 33493 (1999)]. Una de estas proteínas, la p70s6 quinasa, es fosforilada por *mTOR* en serina 389 así como también en treonina 412.

A partir de lo anterior y de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención, un "inhibidor *mTOR*" hace referencia a un compuesto o ligando que inhibe la replicación celular al bloquear la progresión del ciclo celular de G1 a S, inhibiendo la fosforilación de la serina 389 de la p70s6 quinasa mediante el *mTOR*.

Por otra parte, la rapamicina es un antibiótico trieno macrocíclico que ha mostrado presentar actividad antifúngica [C. Vezina et.al., J. Antibiot. 28, 721 (1975); S. N. Sehgalet al., J. Antibiot. 28, 727 (1975); H. A. Baker et al., J. Antibiot. 31, 539 (1978); Patente U.S. 3,929,992; y Patente U. S. 3,993,749] y actividad antitumoral [Patente U.S. 4,885,171]. Así mismo, ha demostrado generar efectos inmunosupresivos [FASEB 3, 3411 (1989)] útiles para prevenir el rechazo de transplantes y además ha demostrado ser útil en la prevención o tratamiento del lupus eritematoso sistémico [Patente U.S. 5,078,999], la inflamación pulmonar [Patente U.S. 5,080,899], la diabetes melitus insulino dependiente [Patente U.S. 5,321,009], desórdenes de la piel tales como soriasis [Patente U.S. 5,286,730], desórdenes intestinales [patente U.S. 5,286,731], proliferación celular en músculos lisos y el engrosamiento íntimo siguiente a lesiones vasculares [Patentes U.S. 5,288,711 y 5,516,781], leucemia/linfoma T de células adultas [Solicitud de patente Europea 525,960 A1], inflamación ocular [Patente U.S. 5,387,589], carcinomas malignos [patente U.S. 5,206,018], enfermedad cardíaca inflamatoria [Patente U.S. 5,496,832] y anemia [Patente U.S. 5,561,138].

Más específicamente, la rapamicina 42-éster con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico (CCI-779) --cuya preparación y uso se revelan en la patente U.S. 5,362,718- es un éster de rapamicina que ha demostrado efectos inhibidores significativos en el crecimiento tumoral tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*.

Así mismo, en la presente solicitud el término *antimetabolito* hace referencia a una sustancia que es estructuralmente similar a un intermediario natural crítico (metabolito) en un patrón bioquímico que conduce a la síntesis de ADN o ARN, el cual es usado por el huésped en ese patrón, pero que en este caso actúa para inhibir la terminación de éste, es decir, la síntesis de

128

ADN o *ARN*. Las principales categorías de antimetabolitos incluyen: (1) análogos de ácido fólico, que son inhibidores de la dihidrofolato reductasa (*DHFR*); (2) análogos de purina, que imitan las purinas naturales (adenina o guanina) pero que estructuralmente son diferentes, de modo que inhiben competitivamente o irreversiblemente el proceso de síntesis de *ADN* o *ARN*; y (3) análogos de pirimidina, que imitan las pirimidinas naturales (citosina, timidina y uracil) pero que son estructuralmente diferentes, de modo que inhiben competitivamente o irreversiblemente el proceso de síntesis de *ADN* o *ARN*.

Así, por ejemplo, algunos antimetabolitos que hacen parte de la presente invención son:

- 5-fluorouracil (5-FU; 5-fluoro-2,4(1H,3H)-pirimidindiona que está comercialmente disponible como crema tópica, como solución tópica y como inyectable.
- Gemcitabina (2'-deoxi-2',2'-difluorocitidina monohidrato((beta)-isómero), que está comercialmente disponible como líquido inyectable.

De otro lado, las composiciones de la presente invención también incluyen un agente bioquímico modificante como parte del régimen quimioterapéutico. El término "agente bioquímico modificante", hace referencia a un agente que es suministrado adicionalmente a la terapia antimetabolito, con el fin de potenciar la actividad antineoplásica y contrarrestar los efectos colaterales del antimetabolito. El leucovorín y el levofolinato son típicamente utilizados como agentes bioquímicos modificantes en la terapia del metrotexato y de 5-fluorouracil.

En ésta invención, las combinaciones preferidas del inhibidor *mTOR* más el antimetabolito incluyen: CCI-779 más gemcitabina; CCI-779 más 5-fluorouracil; y CCI-779 más 5-fluorouracil más leucovorín. Se prefiere que la combinación del CCI-779 más gemcitabina se use en el tratamiento de cáncer pancreático y que la combinación CCI-779 más 5-fluorouracil (con o sin leucovorín) se use en el tratamiento de cáncer colorectal.

Mediante procedimientos estándar de prueba farmacológica, se confirmó la actividad antineoplásica *IN VITRO* e *IN VIVO* de las combinaciones: CCI-779 más gemcitabina CCI-779 más 5-fluorouracil. Así, por ejemplo, los resultados *IN VITRO* mostraron que en ningún caso las combinaciones presentaron menos de un 50% de inhibición del crecimiento tumoral, lo que indica que las combinaciones eran por lo menos aditivas y no producían evidencia de antagonismo.



2

De esta manera, se pudo establecer que las combinaciones de un inhibidor *mTOR* más un agente quimioterapéutico antimetabolito son útiles como terapia antineoplásica. Particularmente, éstas combinaciones son útiles en el tratamiento de carcinoma renal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de seno, tumor neuroendocrino del pulmón, cáncer cervical, cáncer uterino, cáncer de cabeza y cuello, glioma, cáncer de células no pequeñas del pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático, linfoma, melanoma, cáncer de células pequeñas del pulmón, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer esofágico, cáncer gástrico, leucemia, cáncer colorectal y otros cánceres primarios desconocidos.

Finalmente, debido a que las combinaciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención contienen al menos dos agentes antineoplásicos, pueden considerarse posibles combinaciones en las que uno o ambos agentes antineoplásicos se encuentran presentes en dosificaciones subterapéuticamente efectivas, disminuyendo así la toxicidad asociada con la administración de cada agente quimioterapéutico de manera individual.

6. **NOVEDAD**

De conformidad con los argumentos expuestos en el Concepto Técnico número **0688**, el señor Examinador ha considerado que la NOVEDAD de las reivindicaciones 1 y 8 presentadas originalmente se ve afectada por la existencia de los documentos **WO 9952514 (D1)** y **US 5066493 (D2)**, toda vez que la combinación y el producto que se pretenden proteger en dichas reivindicaciones ya han sido previamente enseñados por las referencias citadas, ya que según el señor Examinador:

- (i) "La publicación **WO 9952514** revela la combinación de compuestos antineoplásicos antimetabolitos, junto con rapamicina"; y
- (ii) "La patente **US 5066493** se relaciona con combinaciones de rapamicina y antimetabolitos como fluorouracilo".

Frente a las anteriores afirmaciones expuestas por el señor Examinador, me permito inicialmente dirigir la atención hacia el capítulo reivindicatorio modificado, **en donde se especifica con plena claridad** que la invención comprende:

- **Un combinación farmacéutica conformada por rapamicina y un compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina**, que puede emplearse simultánea, separada o secuencialmente en el tratamiento de un neoplasma en mamíferos.
- **La utilización de cantidades subterapéuticamente efectivas** de la rapamicina, del compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina o de ambos, en la combinación farmacéutica mencionada anteriormente.



180

- La combinación farmacéutica del punto anterior **que adicionalmente incluye un compuesto seleccionado entre leucovorina y levofolinato.**
- **La rapamicina 42-éster del ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico** como la rapamicina de la combinación antineoplásica mencionada anteriormente.
- El compuesto 42-O-(2-hidroxi)etil rapamicina como la rapamicina de la combinación antineoplásica mencionada anteriormente.

De conformidad con lo anterior, resulta completamente claro que los documentos citados como referencias más cercanas del estado de la técnica no pueden ser considerados como relevantes para desvirtuar el requisito de la NOVEDAD, toda vez que ninguno de ellos enseña en **forma directa y explícita una combinación farmacéutica que presente al mismo tiempo las características técnicas subrayadas anteriormente.**

Así, por ejemplo, el documento **WO 9952514 (D1)**, describe el uso de gemcitabina como un agente farmacéutico inmunosupresivo, útil además en el tratamiento de una variedad de desórdenes que incluyen linfomas y leucemias de células T y B. Este documento también describe el uso de gemcitabina en combinación con uno o más componentes activos, dentro de los que se incluye la rapamicina. Sin embargo, la invención de la presente solicitud tal como ha sido ahora reivindicada es novedosa frente a D1 porque: (i) A lo largo del documento (**D1**) nunca se sugiere la selección específica de rapamicina como compuesto activo para el uso en combinación de gemcitabina; (ii) en el documento (**D1**) nunca se sugiere que las cantidades de gemcitabina, del compuesto activo adicional (que puede ser rapamicina) o de ambos, los cuales hacen parte de la combinación reivindicada, **estén presentes en cantidades subterapéuticamente efectivas;** (iii) el documento (**D1**) nunca enseña que la rapamicina sea rapamicina 42-éster con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico; y (iv) en el documento (**D1**) nunca se sugiere la combinación de una rapamicina y 5-fluorouracil con o sin leucovorina.

De otro lado, el documento **US 5,066,493 (D2)**, describe el uso del compuesto rapamicina en el tratamiento de tumores, compuesto que puede ser combinado opcionalmente con otros agentes activos que son mostrados en una lista de la cual hace parte el compuesto 5-fluorouracil. En este sentido, la invención de la presente solicitud de patente tal como ha sido ahora reivindicada **es novedosa frente a D2** porque: (i) A lo largo del documento (**D2**) nunca se sugiere la combinación específica de rapamicina únicamente con 5-fluorouracil, ya que incluso en la reivindicación 1 del documento en mención (**D2**) se reivindica: "Un método de tratar tumores de colon en un mamífero, que comprende la administración a dicho mamífero de una cantidad antitumoral efectiva de rapamicina en combinación de una cantidad antitumoral efectiva de los agentes



187

antineoplásicos 5-fluorouracilo y ciclofosfamida". Resulta claro que en el documento (D2), se reivindica la combinación específica de rapamicina, 5-fluorouracil y ciclofosfamida, y por tanto, **para una persona versada en el tema cada uno de estos tres componentes es esencial para una combinación efectiva**; (ii) en el documento (D2) nunca se sugiere que las cantidades de rapamicina o de 5-fluorouracil estén presentes en cantidades subterapéuticamente efectivas; y (iii) En el documento (D2) nunca se sugiere una combinación que incluya leucovorina.

De otro lado y adicionalmente al planteamiento previamente realizado, me permito dirigir la atención del señor Examinador a lo establecido en el **Manual Andino de Patentes**, publicación preparada por la Secretaría General de la Comunidad Andina, el cual establece en su acápite "Análisis de la Novedad" varios aspectos que pueden ser útiles para entender que la presente invención se ajusta al sentir de los países Andinos en lo que se relaciona con la novedad de las invenciones. Por ejemplo, el mencionado **Manual Andino** establece que "*Para determinar la novedad de la invención, **se debe comprobar si existen anticipaciones del estado de la técnica que contengan explícitamente todas las características técnicas esenciales de la invención**. El examen de novedad se efectúa comparando elemento por elemento de la invención **tal como está definido por las reivindicaciones** con los del estado de la técnica*"¹ (resaltado fuera de texto).

En este sentido, es claro que el señor Examinador falló en el análisis de novedad de la presente invención, toda vez que está citando documentos que no contienen explícitamente la totalidad de las características técnicas esenciales de la combinación farmacéutica tal como ha sido definida en las reivindicaciones de la presente solicitud. En otras palabras, el señor Examinador está considerando una serie de referencias, que si bien comprenden aplicaciones o compuestos químicos similares, no constituyen una anticipación relevante para desvirtuar la novedad de la presente solicitud, ya que no contienen explícitamente todas las características técnicas esenciales de la invención bajo discusión.

Adicionalmente, el mismo **Manual Andino** establece que "*Si todas las características técnicas de la reivindicación independiente **se encuentran descritas en un mismo antecedente y además se encuentran íntimamente relacionadas**, el objeto de dicha reivindicación carece de novedad. **Si una característica, aunque sea banal, no se encuentra contenida en el antecedente, la reivindicación es nueva**"² (resaltado fuera de texto).*



De conformidad con lo anterior, es completamente claro que ninguno de los documentos citados como referencias cercanas del estado de la técnica, es capaz de desvirtuar el requisito de novedad, toda vez que no revelan todas las características

¹ COMUNIDAD ANDINA, Secretaría General, "**Manual Andino de Patentes**", Junio de 2004, Lima, Perú, página 61.

² Ibid, página 62.

182

técnicas esenciales de la invención tal como ha sido ahora reivindicada, de la forma como se ha demostrado en los párrafos anteriores, características que además resultan específicas y esenciales para la comprensión y funcionamiento adecuados de la combinación farmacéutica revelada por el solicitante.

En consecuencia, todo lo expuesto anteriormente demuestra el carácter novedoso de la presente invención con respecto a las enseñanzas de los documentos **D1** y **D2** citados, toda vez que ninguno de ellos revela de manera directa y nada ambigua las características técnicas de la combinación farmacéutica revelada.

Finalmente, como argumento que permite demostrar la novedad de la presente solicitud, así como que el análisis desarrollado frente a este requisito por parte del señor Examinador es contradictorio, me permito resaltar que no resulta correcto concluir la falta de novedad en una solicitud de patente con base en las enseñanzas de dos documentos de patente diferentes que hacen parte del estado de la técnica, toda vez que eso significaría que esas mismas referencias deben ser iguales entre sí y por lo tanto, que necesariamente alguna de las dos fue erróneamente concedida, toda vez que la más antigua desvirtuaría de plano la novedad del documento citado de fecha más reciente.

Adicionalmente, si cada una de las referencias citadas afecta la novedad de aspectos específicos de la presente invención, pero no la combinación de todas las características esenciales de la misma, la citación de más de un documento es una prueba de que no son suficientes las enseñanzas de cada uno de dichos documentos para desvirtuar la novedad de la presente solicitud y, en consecuencia, que la solicitud en estudio es evidentemente novedosa y diferente frente a ambas referencias.

De conformidad con los argumentos expuestos anteriormente, me permito manifestar que se ha demostrado en forma clara y contundente que la invención objeto de la presente solicitud **sí es novedosa** frente a las enseñanzas de los documentos **D1** y **D2** citados como referencias consideradas suficientes para desvirtuar la novedad de la presente solicitud, toda vez que ninguno de estos documentos enseña en forma clara y sin ambigüedades el conjunto de características técnicas esenciales que definen a la presente invención.

7. NIVEL INVENTIVO

El señor Examinador fundamenta la supuesta falta de altura inventiva de la presente invención argumentando que:

- "La publicación **WO 9952514** revela la combinación de compuestos antineoplásicos antimetabolitos, junto con rapamicina".



P

183

- "La patente **US 5066493** se relaciona con combinaciones de rapamicina y antimetabolitos como fluorouracilo".
- "La solicitud **WO 9959628** enseña que las combinaciones de 5-fluorouracilo y lecovorin mejoran la eficacia del 5-fluorouracilo en pacientes con cáncer colorectal avanzado".
- "Teniendo en cuenta el objeto de la solicitud, el cual es proporcionar combinaciones de un inhibidor mTOR, un agente neoplásico y un modificador bioquímico, es una derivación evidente del estado de la técnica ya que una persona versada en la materia tomaría cualquiera de las composiciones reveladas en **WO 9952514** o **US 5066493** y la combinaría con las enseñanzas de **WO 9959628** para llegar a las composiciones que se reivindican".
- "Finalmente no se demuestran propiedades o efectos inesperados de las composiciones de la presente solicitud en comparación con los encontrados en los documento citados".

El documento **WO 9959628 (D3)** al que hace referencia el Señor examinador, describe terapias de combinación utilizando un inmunógeno neutralizador del factor de crecimiento de tumores, particularmente un inmunógeno dirigido a tumores dependientes de gastrina. En este sentido, cuando el documento (D3) se refiere a terapias de combinación con 5-fluorouracil y leucovorina, indica claramente que dicha terapia de combinación ocasiona "un evidente estado de enfermedad" y "efectos laterales nocivos", conduciendo a un deterioro en la calidad de vida del paciente (Mahood et al., *J. Clin. Oncol.* **9** (1991); Erlichman et. Al., *J. Clin. Oncol.* **16** (1998)). Adicionalmente, el documento **D3** propone la inmunización con anti G17 (anti-heptadecagastrina), procedimiento que se suma a la terapia de combinación con agentes quimioterapéuticos tales como 5-fluorouracil y leucovorina. Ahora, teniendo en cuenta todo lo anterior, resulta evidente que nada en **D3** sugiere las combinaciones reivindicadas dentro de la presente invención, como por ejemplo los productos que comprenden una rapamicina y un compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina.

De igual manera, me permito señalar una vez más que:

1. El documento **WO 9952514 (D1)** revela el uso de gemcitabina como agente farmacéutico inmunosupresivo, útil además en el tratamiento de una variedad de desórdenes que incluyen linfomas y leucemias de células T y B. Este documento también describe el uso de gemcitabina en combinación con uno o más componentes activos (dentro de los que se incluye una rapamicina). Adicionalmente, a lo largo de dicho documento (**D1**) nunca se sugiere la **selección específica** de una rapamicina como aquel compuesto activo para el uso en combinación de gemcitabina y por lo tanto tampoco se enseña que la posible rapamicina sea rapamicina 42-éster con ácido 3-hidroxi-2-



184

(hidroximetil)-2-metilpropiónico. Por último, en el documento (D1) nunca se sugiere que las cantidades de gemcitabina, del compuesto activo adicional (que puede ser rapamicina) o de ambos, **estén presentes en cantidades subterapéuticamente efectivas.**

2. El documento **US 5066493 (D2)** describe el uso de rapamicina en el tratamiento de tumores y enseña que este compuesto puede ser combinado opcionalmente con otros agentes activos que son mostrados en una lista de la cual hace parte el compuesto 5-fluorouracil. Sin embargo, en el documento (D2) nunca se sugiere la combinación específica de rapamicina con 5-fluorouracil, ya que incluso en la reivindicación 1 del documento en mención (D2) se reivindica: *"Un método de tratar tumores de colon en un mamífero, que comprende la administración a dicho mamífero de una cantidad antitumoral efectiva de rapamicina en combinación de una cantidad antitumoral efectiva de los agentes antineoplásicos 5-fluorouracilo y ciclofosfamida"*. Resulta claro que en el documento (D2), únicamente se reivindica la combinación específica de rapamicina, 5-fluorouracil y ciclofosfamida, y por tanto, para una persona versada en la materia **cada uno de estos tres componentes es esencial para una combinación efectiva.**

Finalmente, en el documento (D2) nunca se sugiere que las cantidades de rapamicina, del compuesto activo adicional (que puede ser 5-fluorouracil en combinación con ciclofosfamida) estén presentes en cantidades subterapéuticamente efectivas.

De las anteriores aclaraciones resulta evidente que, contrario a la posición del señor Examinador, la presente solicitud de patente no es una derivación evidente del estado de la técnica, ya que una persona versada en la materia, basándose en la combinación de los tres documentos que en opinión del señor Examinador afectan el nivel inventivo de la presente solicitud, no podría llegar a sugerir con certeza la combinación antineoplásica específica que está conformada por una cantidad de una rapamicina, un compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina y un compuesto seleccionado entre leucovorina y levofolinato. En este sentido, una persona versada en la materia que se base en estos tres documentos, tampoco podría llegar a sugerir la utilización específica de la rapamicina 42-éster con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico, así como tampoco podría llegar a sugerir la utilización de cantidades subterapéuticamente efectivas del inhibidor mTOR (rapamicina) y/o del agente antineoplásico antimetabolito (gemcitabina ó 5-fluorouracil) como parte de la combinación antineoplásica.

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

De conformidad con lo anterior, se ha demostrado que las nuevas reivindicaciones, tal como han sido modificadas y presentadas junto con este memorial son claras y sí cumplen con el requisito de novedad y nivel inventivo requerido y por tanto, son merecedoras del privilegio de patente solicitado.

8. Anexo me permito presentar:

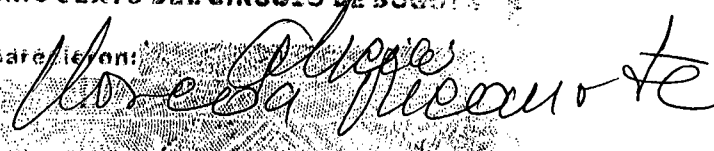
- (i) Recibo número 07 - 55,890 expedido por la Superintendencia de Industria y Comercio, que acredita el pago de las modificaciones mencionadas;
- (ii) Copia de la descripción, que reemplaza la originalmente presentada, donde se realizó la corrección mencionada anteriormente; y
- (iii) Copia de las páginas 30 a 31 correspondientes al capítulo reivindicatorio ahora modificado, que reemplaza el originalmente presentado y actualmente estudiado, en las cuales se han realizado las modificaciones anteriormente mencionadas.

9. En vista de lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz las modificaciones y los argumentos presentados y conceder el privilegio de patente solicitado.

Señor Superintendente,


ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

NOTARIA SEXTA DE BOGOTÁ
RECIBO DE CUMPLIMIENTO Y PRESENTACIÓN PERSONAL
Bogotá, D.C. **06 AGO 2007**
Ante mí **JUAN MANUEL POTERO MEDINA**
NOTARIO SEXTO DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ

Comparecieron:


Identificación: **39.690.713**
W = 153215

y sus representantes, quienes se comprometieron a cumplir con lo dispuesto en el artículo 42 del Código de Procedimiento Civil y a que el presente documento sea claro. En consecuencia, se firmó esta diligencia.




ALICIA LLOREDA R.
C.C. No. 39.690.713 de Usaquén



188

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 55,890
FECHA : JULIO 10 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 03-087918- -00007-0000

Fecha: 2007-08-06 15:47:19 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 44

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	55092741	10/07/2007	1,773,000.00

***** CONCEPTO *****

CAMAT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	
		12 MARCAS Y LEMAS COMERCIALES	99,000.00
		TOTAL :	\$ 99,000.00

SON: NOVENTA Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

187

COMBINACIONES ANTINEOPLASICAS TALES COMO RAPAMICINA JUNTO CON GEMCITABINA O FLUOROURACIL

Resumen: Objeto y finalidad de la invención

Esta invención se refiere a combinaciones antineoplásicas, más particularmente al uso de combinaciones de un inhibidor mTOR (por ejemplo, rapamicina 42-ester con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico (CCI-779)) y un agente antineoplásico antimetabolito en el tratamiento de neoplasmas.

COMBINACIONES ANTINEOPLASICAS TALES COMO RAPAMICINA JUNTO CON GEMCITABINA O FLUOROURACIL

Esta invención se refiere a combinaciones antineoplásicas, más particularmente al uso de combinaciones de un inhibidor mTOR (por ejemplo, rapamicina 42-éster con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico (CCI-779)) y un agente antineoplásico antimetabolito en el tratamiento de neoplasmas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La rapamicina es un antibiótico trieno macrocíclico producido por Streptomyces higroscopicus, el cual se ha encontrado que tiene actividad antifúngica, particularmente contra Candida albicans, tanto in vitro como in vivo [C. Vezina et al., J. Antibiot. 28, 721 (1975); S.N. Sehgal et al., J. Antibiot. 28, 727 (1975); H.A. Baker et al., J. Antibiot. 31, 539 (1978); Patente U.S. 3,929,992; y Patente U.S. 3,993,749]. Adicionalmente, la rapamicina sola (Patente U.S. 4,885,171) o en combinación con picibanil (Patente U.S. 4,401,653) ha demostrado tener actividad antitumoral.

Los efectos inmunosupresivos de la rapamicina han sido revelados en FASEB 3, 3411 (1989). La ciclosporina A y el FK-506, otras moléculas macrocíclicas, también han mostrado ser efectivos como agentes inmunosupresivos, y por tanto útiles para prevenir el rechazo de trasplantes [FASEB 3, 3411 (1989); FASEB 3, 5256 (1989);

21

R.Y. Calne et al., Lancet 1183 (1978); y Patente U.S. 5,100,899]. R Martel et al., [Can. J. Physiol. Pharmacol. 5,48 (1977)] reveló que la rapamicina es efectiva en el modelo experimental de encefalomiелitis alérgica, en un modelo para esclerosis múltiple; en el modelo de artritis adyuvante, en un modelo para artritis reumatoidea; e inhibió efectivamente la formación de anticuerpos del tipo IgE.

La rapamicina es también útil en la prevención o tratamiento del lupus eritematoso sistémico [Patente U.S. 5,078,999], la inflamación pulmonar [Patente U.S. 5,080,899], la diabetes mellitus insulino dependiente [Patente U.S. 5,321,009], desórdenes de la piel, tales como psoriasis [Patente U.S. 5,286,730], desórdenes intestinales [Patente U.S. 5,286,731], proliferación celular en músculos lisos y el engrosamiento íntimo siguiente a lesiones vasculares [Patentes U.S. 5,288,711 y 5,516,781], leucemia/linfoma de células T adultas [Solicitud de Patente Europea 525,960 A1], inflamación ocular [Patente U.S. 5,387,589], carcinomas malignos [Patente U.S. 5,206,018], enfermedad cardiaca inflamatoria [Patente U.S. 5,496,832], y anemia [Patente U.S. 5,561,138].

La rapamicina 42-ester con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico (CCI-779) es un ester de rapamicina que ha demostrado efectos inhibidores significativos en el crecimiento tumoral tanto en modelos in vitro como in vivo. La preparación y uso de hidroxieúteres de rapamicina, incluyendo CCI-779, se revelan en la Patente U.S. 5,362,718.

El CCI-779 exhibe propiedades citostáticas, como oposición a propiedades citotóxicas, y puede retrasar el tiempo en la progresión de tumores o el tiempo en la recurrencia de tumores. Se considera que el

CCI-779 tiene un mecanismo de acción que es similar al del sirolimus. El CCI-779 reúne y forma un complejo con la proteína citoplásmica FKBP, que inhibe una enzima, mTOR (objetivo mamífero de la rapamicina, también conocido como proteína asociada a la FKBP12-rapamicina [FRAP]). La inhibición de la actividad de la quinasa del mTOR inhibe una variedad de trayectorias en la transducción de señales, incluyendo la proliferación celular estimulada por citoquina, la traducción de mRNAs en varias proteínas clave que regulan la fase G1 del ciclo celular, y la transcripción inducida IL-2, lo que conduce a la inhibición de la progresión del ciclo celular desde G1 a S. El mecanismo de acción del CCI-779 que resulta en el bloqueo de la fase G1 a S es novedoso en un medicamento anticanceroso.

In vitro, el CCI-779 ha mostrado que inhibe el crecimiento de un número de células tumorales histológicamente diversas. Líneas de cáncer del sistema nervioso central (SNC), leucemia (células T), cáncer de seno, cáncer de próstata, y melanoma estuvieron entre los más sensibles al CCI-779. El compuesto detuvo células en la fase G1 del ciclo celular.

Estudios in vivo en ratones pelados han demostrado que el CCI-779 tiene actividad contra xenografos tumorales humanos de distintos tipos histológicos. Los gliomas fueron particularmente sensibles al CCI-779 y el compuesto resultó activo en un modelo de glioma ortóptico en un ratón pelado. La estimulación inducida (derivada de plaquetas) del factor de crecimiento de una línea celular de glioblastoma humano in vitro fue marcadamente suprimido por el CCI-779. El crecimiento de varios tumores pancreáticos humanos en ratones pelados así como también una de dos líneas de cáncer de seno estudiadas in vivo también fue inhibido por el CCI-779.

191

DESCRIPCION DE LA INVENCION

Esta invención proporciona el uso de combinaciones de un inhibidor mTOR y un agente neoplásico antimetabolito como quimioterapia de combinación antineoplásica. En particular, estas combinaciones son útiles en el tratamiento del cáncer renal, cáncer de tejidos blandos, cáncer de seno, tumor neuroendocrino del pulmón, cáncer cervical, cáncer uterino, cáncer de cara y cuello, glioma, cáncer de células pulmonares no pequeñas, cáncer de próstata, cáncer pancreático, linfoma, melanoma, cáncer de células pulmonares pequeñas, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer de esófago, cáncer gástrico, leucemia, cáncer colorectal, y cáncer primario no conocido. Esta invención también suministra combinaciones de un inhibidor mTOR y de un agente antineoplásico antimetabolito para usarlo como quimioterapia de combinación antineoplásica, en la que se usa dosificación del inhibidor mTOR o del agente antineoplásico antimetabolito o de ambos en dosificaciones subterapéuticamente efectivas.

De acuerdo a como se usa en esta invención, el término "tratamiento" significa tratar un mamífero que tenga una enfermedad neoplásica proporcionando a dicho mamífero una cantidad efectiva de una combinación de un inhibidor mTOR y un agente antineoplásico antimetabolito con el propósito de inhibir el crecimiento del neoplasma en dicho mamífero, la erradicación del neoplasma, o paliación del mamífero.

De acuerdo a como se usa en esta invención, el término "suministrar", con respecto a suministrar la combinación, significa administrar directamente la combinación, o administrar un profármaco,

derivado de, o análogo de uno o ambos componentes de la combinación que formarán una cantidad efectiva de la combinación dentro del cuerpo.

El mTOR es un objetivo mamífero de la rapamicina, también conocido como la proteína asociada de la FKBP12-rapamicina [FRAP]. La inhibición de la actividad de la quinasa del mTOR inhibe una variedad de rutas en la transducción de señales, incluyendo la proliferación celular estimulada por citoquina, la traducción de mRNAs en varias proteínas clave que regulan la fase G1 del ciclo celular, y la transcripción inducida IL-2, lo que conduce a la inhibición de la progresión del ciclo celular desde G1 a S.

El mTOR regula la actividad de por lo menos dos de las proteínas involucradas en la traducción de las proteínas reguladoras del ciclo celular específico (Burnett, P.E., PNAS 95: 1432 (1998) y Isotani, S., J. Biol. Chem. 274: 33493 (1999)). Una de estas proteínas p70s6 quinasa es fosforilada por mTOR en serina 389 así como también en treonina 412. Esta fosforilación puede ser observada en el factor de crecimiento de células tratadas mediante Manchado de Occidente de extractos celulares completos de estas células con anticuerpos específicos para el residuo fosfoserina 389.

De acuerdo a como se usa en esta invención, un "inhibidor mTOR" significa un compuesto o ligando que inhibe la replicación celular al bloquear la progresión del ciclo celular de G1 a S inhibiendo la fosforilación de la serina 389 de la p70s6 quinasa mediante el mTOR.

El siguiente procedimiento de prueba farmacológica estándar puede usarse para determinar si el compuesto es un inhibidor mTOR,

tal y como se define aquí. El tratamiento del factor de crecimiento de células estimuladas con un inhibidor mTOR tal como rapamicina bloquea completamente la fosforilación de la serina 389 como se evidenció mediante manchado Occidental y como tal constituye un buen ensayo para la inhibición mTOR. De esta manera, lisados celulares completos de células estimuladas por un factor de crecimiento (por ejemplo, IGF1) en cultivo en presencia de un inhibidor mTOR debería fallar en mostrar una banda en un gel acrilamida con capacidad de ser marcado con un anticuerpo específico para serina 389 de p70s6K.

Materiales:

- Amortiguador de muestra LDS NuPAGE (NOVEX Cat #NP0007)
- Agente reductor de muestra NuPAGE (NOVEX Cat #NP0004)
- Gel Bis-Tris 4-12% NuPAGE (NOVEX Cat #NP0321)
- Amort. de corrido SDS MOPS NuPAGE (NOVEX Cat #NP0001)
- Nitrocelulosa (NOVEX Cat #LC2001)
- Amortiguador de transferencia NuPAGE (NOVEX Cat #NP0006)
- Hiperpelícula ECL (Amersham Cat #RPN3114H)
- Reactivo detección ELC Manchado de Occidente (Amersham Cat #RPN2134)

Anticuerpo primario: Fosfo-p70 S6 quinasa (Thr389) (Cell Signaling Cat # 9205)

Anticuerpo secundario: Conjugado cabra anti-conejo IgG-HRP (Santa Cruz Cat # sc-2004)

Métodos:

A. Preparación de los lisados celulares

Se hicieron crecer líneas celulares en un medio basal óptimo suplementado con suero bovino fetal al 10% y penicilina/treptomicina. Para los estudios de fosforilación, se cultivaron células en placas de 6 pozos. Después de que las células pegaron completamente, se sometieron a suspensión del suero. El tratamiento con los inhibidores mTOR varió entre 2 y 16 horas. Después del tratamiento con el fármaco, las células se lavaron una vez con PBS (sol. Salina amortiguada con fosfato sin Mg^{++} ni Ca^{++}) y luego lisadas en 150-200 μ l de amortiguador de muestra LDS NuPAGE por pozo. Los lisados fueron brevemente sonicados y luego centrifugados durante 15 minutos a 14000 rpm. Los lisados se almacenaron a menos $-80^{\circ}C$ hasta ser usados.

El procedimiento de prueba puede también realizarse incubando las células en el medio de crecimiento durante la noche, después de que hayan pegado completamente. Los resultados bajo los dos grupos de condiciones deberían ser los mismos para un inhibidor mTOR.

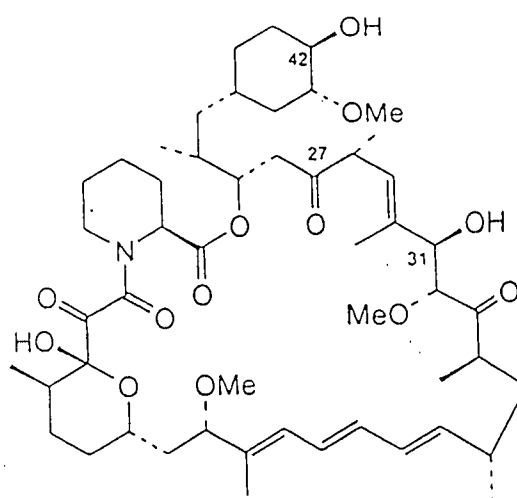
B. Análisis de Mancha de Occidente

- 1) Preparar las muestras totales de proteínas colocando 22.5 μ l de lisado por tubo y luego agregar 2.5 μ l de agente reductor de muestra NuPAGE. Calentar las muestras a $70^{\circ}C$ durante 10 minutos. Realizar electroforesis empleando geles NuPAGE y amortiguadores SDS NuPAGE.
- 15

- 2) Transferir el gel a una membrana de nitrocelulosa con amortiguador de transferencia NuPAGE. Se bloquean las membranas durante 1 hora con amortiguador de bloqueo (sol. Salina Tris amortiguada con Tween al 0.1% y con leche libre de grasa al 5%). Las membranas se lavan 2 veces con amortiguador de lavado (sol. Salina Tris amortiguada con Tween al 0.1%).
- 3) Las manchas/membranas son incubadas con el anticuerpo primario P-p70 S6K (T389) (1:1000) en amortiguador de bloqueo durante la noche a 4°C en una plataforma de rotación.
- 4) Las manchas se lavan 3 veces durante 10 minutos cada una con amortiguador de lavado, y se incuban con el anticuerpo secundario (1:2000) en el amortiguador de bloqueo durante 1 hora a temperatura ambiente.
- 5) Después de aglutinar con el anticuerpo secundario, las manchas se lavan 3 veces durante 10 minutos cada una con amortiguador de lavado, y 2 veces durante 1 minuto cada una con sol. salina amortiguada con Tris, seguido por detección quimioluminiscente (ELC) y luego se exponen a películas de quimioluminiscencia.

De acuerdo a como se usa en esta invención, el término "una rapamicina" define una clase de compuestos inmunosupresivos que contienen el núcleo básico de rapamicina (mostrado abajo). Las rapamicinas de esta invención incluyen los compuestos que puedan ser química o biológicamente modificados como derivados del núcleo de la rapamicina, mientras mantengan las propiedades inmunosupresivas. En concordancia, el término "una rapamicina" incluye ésteres, éteres, oximas, hidrazonas, y hidroxilaminas de rapamicina, así como también en los que los grupos funcionales en el núcleo de rapamicina haya sido modificado, por ejemplo a través de reducción u oxidación. El término

"una rapamicina" también incluye las sales farmacéuticamente aceptables de rapamicinas, que tengan capacidad de formar sales tales que contengan bien una mitad básica o una mitad ácida.



RAPAMICINA

Se prefiere que los ésteres y éteres de la rapamicina sean de los grupos hidroxilo en las posiciones 42- y/o 31- del núcleo de rapamicina, que los ésteres y éteres de la rapamicina sean de un grupo hidroxilo en la posición 27- (seguido de reducción química de la cetona -27), y que las oximas, hidrazonas, y hidroxilaminas sean de una cetona en la posición -42 (seguido de oxidación del grupo 42-hidroxilo) y de la cetona-27 del núcleo de rapamicina.

Los ésteres y éteres 42- y/o 31- preferidos de rapamicina se revelan en las siguientes patentes, las cuales son incorporadas aquí como referencia: ésteres alquilo (Patente U.S. 4,316,885); ésteres

aminoalquilo (Patente U.S. 4,650,803); ésteres fluorados (Patente U.S. 5,100,883); ésteres amida (Patente U.S. 5,118,677); ésteres carbamato (Patente U.S. 5,118,678); éteres sililo (Patente U.S. 5,120,842); aminoésteres (Patente U.S. 5,130,307); acetales (Patente U.S. 5,51,413); aminodiésteres (Patente U.S. 5,162,333); ésteres sulfonato y sulfato (Patente U.S. 5,177,203); ésteres (Patente U.S. 5,221,670); alcoxiésteres (Patente U.S. 5,233,036); éteres O-arilo, -alquilo, -alquenilo, y -alquinilo (Patente U.S. 5,258,389); ésteres carbonato (Patente U.S. 5,260,300); carbamatos de arilcarbonilo y alcoxicarbonilo (Patente U.S. 5,262,423); carbamatos (Patente U.S. 5,302,584); hidroxíésteres (Patente U.S. 5,362,718); ésteres protegidos (Patente U.S. 5,385,908); ésteres heterocíclicos (Patente U.S. 5,385,909); ésteres gem-disustituidos (Patente U.S. 5,385,910); ésteres amino alcanólicos (Patente U.S. 5,389,639); ésteres fosforilcarbamato (Patente U.S. 5,391,730); ésteres carbamato (Patente U.S. 5,411,967); ésteres carbamato (Patente U.S. 5,434,260); ésteres amidino carbamato (Patente U.S. 5,463,048); ésteres carbamato (Patente U.S. 5,480,988); ésteres carbamato (Patente U.S. 5,480,989); ésteres carbamato (Patente U.S. 5,489,680); N-óxido ésteres protegidos (Patente U.S. 5,491,231); ésteres biotin (Patente U.S. 5,504,091); éteres O-alquilo (Patente U.S. 5,665,772); y ésteres PEG de rapamicina (Patente U.S. 5,780,462). La preparación de estos ésteres y éteres se revela en las patentes arriba citadas.

Los ésteres y éteres -27 preferidos de rapamicina se revelan en la Patente U.S. 5,256,790, la cual se incluye aquí como referencia. La preparación de estos ésteres y éteres se revela en las patentes arriba citadas.

198

Las oximas, hidrazonas e hidroxilaminas de rapamicina preferidas son las reveladas en las Patentes de U.S. 5,373,014, 5,378,836, 5,023,264, y 5,563,145, las cuales son incorporadas aquí como referencia. La preparación de estas oximas, hidrazonas e hidroxilaminas se revela en las patentes arriba citadas. La preparación de 42-oxorapamicina se revela en la 5,023,263, la cual es incorporada aquí como referencia.

Las rapamicinas particularmente preferidas incluyen rapamicina [Patente U.S. 3,929,992], CCI-779 [rapamicina 42-ester con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico]; Patente U.S. 5,362,718], y 42-O-(2-hidroxi)etil rapamicina [Patente U.S. 5,665,772].

Cuando sea aplicable, las sales farmacéuticamente aceptables de la rapamicina pueden formarse a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos, por ejemplo, ácido acético, propiónico, láctico, cítrico, tartárico, succínico, fumárico, maléico, malónico, mandélico, málico, ptálico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, metanosulfónico, naftalenosulfónico, bencenosulfónico, toluensulfónico, alcanforsulfónico, y otros ácidos similarmente aceptables ayudan cuando la rapamicina contiene una mitad básica adecuada. Las sales también pueden formarse a partir de bases orgánicas o inorgánicas, tales como sales metálicas alcalinas (por ejemplo, sodio, litio o potasio) sales de metal alcalino térreas, sales de amonio, sales alquilamonio que contengan de 1-6 átomos de carbono en cada grupo alquilo, y sales trialquilamonio que contengan de 1-6 átomos de carbono en cada grupo alquilo, cuando la rapamicina contiene una mitad ácida adecuada.

Se prefiere que el inhibidor mTOR usado en las combinaciones antineoplásicas de esta invención sea una rapamicina, y más

preferiblemente que el inhibidor mTOR sea una rapamicina, CCI-779, o una 42-O-(2-hidroxi)etil rapamicina.

Según se describe aquí, la CCI-779 fue evaluada como un representante del inhibidor mTOR en el inhibidor mTOR más las combinaciones antimetabolitas de esta invención.

La preparación de CCI-779 se describe en la Patente U.S. 5,362,718, la cual es incorporada aquí como referencia. Cuando se usó CCI-779 como agente antineoplásico, se proyectó que la dosificación inicial por infusión intravenosa estuviera entre 0.1 y 100 mg/m² cuando se administró en un régimen de dosificación diaria (diario durante 5 días, cada 2-3 semanas), y entre aproximadamente 0.1 y 1000 mg/m² cuando se administró en un régimen de dosificación de una vez semanal. Las infusiones orales o intravenosas se prefieren como vías de administración, siendo más preferida la intravenosa.

De acuerdo a como se usa en esta invención, el término "antimetabolito" significa una sustancia que es estructuralmente similar a un intermediario natural crítico (metabolito) en un patrón bioquímico que conduce a la síntesis de DNA o RNA el cual es usado por el huésped en ese patrón, pero que actúa para inhibir la terminación de ese patrón (esto es, síntesis de DNA o RNA). Más específicamente, los antimetabolitos funcionan típicamente (1) compitiendo con los metabolitos por el punto regulatorio o catalítico de una enzima clave en la síntesis de DNA o RNA, o (2) substituyendo por un metabolito que sea normalmente incorporado en el DNA o RNA, y por tanto produciendo un DNA o RNA que no pueda resistir replicación. Las principales categorías de antimetabolitos incluyen (1) análogos de ácido fólico, que son inhibidores de la dihidrofolato reductasa (DHFR); (2)

análogos de purina, que imitan las purinas naturales (adenina o guanina) pero estructuralmente diferentes de modo que inhiben competitivamente o irreversiblemente el procesamiento nuclear del DNA o RNA; y (3) análogos de pirimidina, que imitan las pirimidinas naturales (citosina, timidina, y uracil) pero que son estructuralmente diferentes de modo que inhiben competitivamente o irreversiblemente el procesamiento nuclear del DNA o RNA.

Los siguientes son ejemplos representativos de los antimetabolitos de esta invención.

5-Fluorouracil (5-FU; 5-fluoro-2,4(1*H*,3*H*)-pirimidindiona que está comercialmente disponible en una crema tópica (FLUOROPLEX o EFUDEX), una solución tópica (FLUOROPLEX o EFUDEX), y como un inyectable que contiene 50 mg/mL de 5-fluorouracil (ADRUCIL o flurouracil).

Floxuradina (2'-deoxi-5-fluorouridina) que está comercialmente disponible como un inyectable que contiene 00 mg/vial de fluxuradina (FUDR o floxuradina).

Tioguanina (2-amino-1,7-dihidro-6-*H*-purina-6-tiona) que está comercialmente disponible en tabletas orales de 40 mg (tioguanina).

Citarabina (4-amino-1-(beta)-D-arabinofuranosil-2(1*H*)-pirimidinona) que está comercialmente disponible como inyectable liposómico que contiene 10 mg/mL de citarabina (DEPOCYT) o como líquido inyectable que contiene entre 1 mg – 1g/vial o 20 mg/mL (citarabina o CYTOSAR-U).

201

Fludarabina (9-H-Purin-6-amina,2-fluoro-9-(5-O-fosfono-(beta)-D-arabino-furanosil) que está comercialmente disponible como líquido inyectable que contiene 50 mg/vial (FLUDARA).

6-Mercaptopurina (1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona) que está comercialmente disponible en tabletas orales de 50 mg (PURINETHOL).

Metotrexato (MTX; ácido N-[4-[[[2,4-diamino-6-pteridinil) metil]metilamino]-benzoil]-L-glutámico) que está comercialmente disponible como líquido inyectable que contiene entre 2.5 – 25 mg/mL y 20 mg-1 g/vial (metotrexato sódico o FOLEX) y en tabletas orales de 2.5 mg (metotrexato sódico).

Gemcitabina (2'-deoxi-2',2'-difluorocitidina monoclóridato ((beta)-isómero), que está comercialmente disponible como líquido inyectable que contiene entre 200 mg – 1g/vial (GEMZAR).

Capecitabina (5'-deoxi-5-fluoro-N-[(pentiloxi)carbonil]-citidina que está comercialmente disponible como tableta ora de 150 o 500 mg (XELODA).

Pentostatin ((R)-3-(2-deoxi-(beta)-D-eritro-pentofuranosil)-3,6,7,8-tetra-hidroimidazo[4,5-d][1,3]diazepin-8-ol) que está comercialmente disponible como líquido inyectable que contiene 10 mg/vial (NIPENT).

Trimetrexato (2,4-diamino-5-metil-6-[(3,4,5-trimetoxianilino)metil]-quinazolina mono-D-glucoronato) que está

702

comercialmente disponible como un líquido inyectable que contiene entre 25 -200 mg/vial (NEUTREXIN).

Cladribina (2-cloro-6-amino-9-(2-deoxi-(beta)-D-aritropento-furosanil)-purina) que está comercialmente disponible como un líquido inyectable que contiene 1 mg/mL (LEUSTATIN).

La siguiente tabla resume brevemente algunas de las dosificaciones recomendadas de los antimetabolitos listados arriba.

P2

FARMACO	DOSIFICACION	REGIMEN
5-Fluorouracil	12 mg/kg oral 6 mg/kg.oral 370-600 mg/m ² i.v.	Diario por 4 días Días 6, 8, 10, 12 No fármaco en los días 5, 7, 9 y 11 Dosis por mitad si se observa toxicidad Diario por 5 días, cada 3-4 semanas
Floxuradina (FUDR)	0.1-0.6 mg/kg	Diario por infusión arterial
Citarabina (DEPOCYT)	50 mg	Cada 14 días por 5 dosis durante período de inducción; seguido cada 28 días para mantenimiento
Citarabina (inyectable)	100 mg/m ² 2-3 g/m ²	Diario por 7 días Dos veces diarias por 2-6 días
Fludarabina (FLUDARA)	25 mg/m ²	30 min infusión por 5 días consecutivos; cada 28 días
6-Mercaptopurina (PURINETHOL)	2.5-5 mg/kg 1.5-2.5 mg/kg	Diario para inducción Diario para mantenimiento
Metotrexato	15-30 mg oral	Diario por 5 días seguidos; repetir 3-5 veces
Gemcitabina (GEMZAR)	1000 mg/m ² /30 min 1000-1250 mg/m ² /30 min	Agente único: una vez semanal por 7 semanas, seguido por 1 semana descanso, luego una vez semanal durante 3 de cada 4 semanas Terapia en combinación: días 1, 8, 15, para ciclos de 28 días, o día 1 y 8 de cada ciclo de 21 días
Capecitabina (XELODA)	2500 mg/m ²	Diario por 2 semanas seguido por un período de descanso de 1 semana
Pentostatin (NIPENT)	4 mg/m ²	Como bolo en inyección o diluido como infusión intravenosa (i.v.); cada 2 semanas
Trimetrexato (NEUTREXIN)	45 mg/m ²	Infusión i.v. una vez diariamente por 21 días
Cladribina (LEUSTATIN)	0.09 mg/kg/día	Infusión continua por 7 días consecutivos

Esta invención también cubre el uso de un inhibidor mTOR más un antimetabolito en donde un agente bioquímico modificante es parte del régimen quimioterapéutico. El término "agente bioquímico modificante" es bien conocido y entendido por aquellos expertos en el arte, como un agente que se da como adjunto a la terapia antimetabolita, el cual sirve para potenciar su actividad antineoplásica, así como también contrarrestar los efectos colaterales del antimetabolito. El leucovorin y el levofolinato son típicamente utilizados como agentes bioquímicos modificantes en la terapia del metotrexato y de 5-FU.

El Leucovorin (ácido 5-formil-5,6,7,8- tetrahidrofólico) está comercialmente disponible como líquido inyectable que contiene entre 5 – 10 mg/mL o 50 – 300 mg/vial leucovorin cálcico o WELLCOVORIN) y como tabletas orales de 5 – 25 mg (leucovorin cálcico).

El Levofolinato (isómero activo farmacológicamente de ácido 5-formil tetrahidrofólico está comercialmente disponible como líquido inyectable que contiene 25 – 75 mg de levofolinato (ISOVORIN) o como tabletas orales de 2.5 – 7.5 mg (ISOVORIN).

Las combinaciones preferidas del inhibidor mTOR más el antimetabolito de esta invención incluyen CCI-779 más gemcitabina; CCI-779 más 5-fluorouracil; y CCI-779 más 5-fluorouracil más leucovorin. Se prefiere que la combinación del CCI-779 más gemcitabina se use en el tratamiento de cáncer pancreático y que la combinación CCI-779 más 5-fluorouracil (con o sin leucovorin) se use en el tratamiento de cáncer colorectal.

18

La actividad antineoplásica de la combinación del CCI-779 más antimetabolito se confirmó *in vitro* y *in vivo* por procedimientos de prueba farmacológicos estándar utilizando combinaciones de CCI-779 más gemcitabina; y CCI-779 más 5-fluorouracil se confirmó entre las combinaciones más representativas de esta invención. Lo siguiente describe brevemente los procedimientos usados y los resultados obtenidos.

Se emplearon líneas de rhabdomyosarcoma humano Rh30 y Rh1 y la línea de glioblastoma humano SJ-GBM2 para estudios de combinación *in vitro* con CCI-779 y agentes antimetabolitos. Para los estudios *in vivo* se empleó un neuroblastoma humano (NB1643) y una línea de colon humano GC3.

Se determinaron las curvas de respuesta a la dosificación para cada uno de los fármacos de interés. Las líneas celulares Rh30, Rh1 y SJ-G2 se colocaron en placas grupales de 6 pozos a razón de 6×10^3 , 5×10^3 y 2.5×10^4 células/pozo respectivamente. Después de un período de incubación de 24 horas, se agregaron los fármacos así 10%FBS+RPMI 1640 para Rh30 y Rh1 o 15%FBS+DME para SJ-G2. Después de siete días de exposición al medio que contenía el fármaco, se liberaron los núcleos mediante tratamiento de las células con una solución hipotónica seguida de un detergente. Luego se contaron los núcleos en un Contador Coulter. Los resultados de los experimentos fueron graficados y se determinaron por extrapolación los valores IC_{50} (concentración de fármaco que produce 50% de inhibición del crecimiento) para cada fármaco. Debido a que los valores IC_{50} variaron ligeramente de experimento a experimento, se emplearon dos valores que agrupan los IC_{50} para cada fármaco en los estudios de interacción. El punto de máxima interacción entre dos fármacos ocurre cuando estos

28

están presentes en una proporción 1:1 si el isobolo es de forma estándar. Por lo tanto, cada una de las tres concentraciones IC_{50} aproximadas de CCI-779 se mezclaron en una proporción 1:1 con cada una de las tres IC_{50} s aproximadas de gemcitabina o 5-FU. Esto produjo nueve combinaciones 1:1 de fármacos en cada experimento más tres concentraciones IC_{50} para CCI-779 y el otro fármaco. Este protocolo usualmente resultó en por lo menos una combinación de cada fármaco que contenía un valor IC_{50} . La combinación 1:1 de concentraciones IC_{50} para CCI-779 en cada fármaco de quimioterapia se usó luego para calcular aditividad, sinergismo, o antagonismo utilizando la fórmula de Berenbaum: $x/X_{50} + y/Y_{50} = 1, <1, >1$. Si las tres concentraciones de CCI-779 probadas solas no produjeron un IC que igualara cualquiera de los tres ICs del otro compuesto probado solo, todas las combinaciones 1:1 se revisaron para ver si sus ICs estaban dentro de los ICs adecuados para los fármacos probados solos. De ser así, el efecto era considerado aditivo.

Los resultados obtenidos en el procedimiento de prueba farmacológica estándar *in vitro* mostraron que en ningún caso las combinaciones presentaron menos de un 50% de inhibición del crecimiento lo que indica que las combinaciones eran por lo menos aditivas y no producían evidencia de antagonismo.

Ratones CBA/CaJ hembras (Laboratorios Jackson, Bar Harbor, ME), de 4 semanas de edad, fueron inmuno-suprimidos mediante timectomía, 3 semanas más tarde fueron sometidos a radiación de todo el cuerpo (1200 cGy) empleando una fuente ^{137}Cs . Los ratones recibieron 3×10^6 células de médula ósea nucleadas después de 6-8 horas de la irradiación. Se implantaron piezas tumorales de aproximadamente 3 mm^3 en el espacio de los flancos dorsales de los

ratones para iniciar el crecimiento del tumor. Los ratones que tenían tumores fueron agrupados aleatoriamente en grupos de siete antes de iniciar la terapia. Los ratones que presentaban tumores recibieron cada uno el fármaco cuando los tumores estaban de un diámetro aproximado de 0.20 – 1 cm. El tamaño del tumor se determinó en intervalos de 7 días empleando calipers digitales Vernier en interfase con un computador. Los volúmenes de los tumores se calcularon suponiendo que los tumores eran esféricos empleando la fórmula $[(\pi/6) \times d^3]$, en donde d es el diámetro promedio. Se administró CCI-779 en un programa de 5 días consecutivos por 2 semanas con repetición de este ciclo cada 21 días por 3 ciclos. Esto resultó en administración del CCI-779 en los días 1-5, 8-12 (ciclo 1); 21-25, 28-32 (ciclo 2); y 42-46, 49-53 (ciclo 3). La programación del otro fármaco de quimioterapia para cada estudio fue de la siguiente manera:

Gemcitabina en los días 1, 4, 8 en el ciclo 1 solamente.

La combinación de CCI-779 y gemcitabina se evaluó en procedimiento de prueba xenográfico en ratón (GC3) – colon humano. En este procedimiento de prueba, el CCI-779 se administró diariamente x 5 durante 2 semanas consecutivas cada 21 días durante 3 ciclos y la gemcitabina se administró en los días 1, 4, y 8 del primer ciclo solamente. La presencia de CCI-779 no mejoró la regresión del tumor como se vio en el primer ciclo con el tratamiento de gemcitabina. Sin embargo, los grupos tratados con CCI-779 presentaron retraso en el tiempo requerido para alcanzar 2 – 3 veces el volumen de tumor original pretratamiento (versus la gemcitabina sola), lo que indica que existió por lo menos un beneficio aditivo derivado del tratamiento en combinación.

Con base en los resultados de estos procedimientos de prueba farmacológicos, las combinaciones de un inhibidor mTOR más un agente quimioterapéutico antimetabolito son útiles como terapia antineoplásica. Más particularmente, estas combinaciones son útiles en el tratamiento de carcinoma renal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de seno, tumor neuroendocrino del pulmón, cáncer cervical, cáncer uterino, cáncer de cabeza y cuello, glioma, cáncer de células no-pequeñas del pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático, linfoma, melanoma, cáncer de células pequeñas del pulmón, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer esofágico, cáncer gástrico, leucemia, cáncer colorectal, y otros cáncer primarios desconocidos. Como estas combinaciones contienen por lo menos dos agentes antineoplásicos, el uso de tales combinaciones también considera el uso de combinaciones de cada uno de los agentes en donde uno o ambos agentes se usen en dosificaciones subterapéuticamente efectivas, por tanto disminuyendo así la toxicidad asociada con el agente quimioterapéutico individual.

Al suministrar quimioterapia, agentes múltiples que tengan diferentes modalidades de acción son típicamente empleados como parte de un "coctel" de quimioterapia. Se anticipa que las combinaciones de esta invención serán usadas como parte de cocteles de quimioterapia que puedan contener uno o más agentes antineoplásicos adicionales dependiendo de la naturaleza de la neoplasia a ser tratada. Por ejemplo, esta invención también incluye el uso de la combinación del inhibidor mTOR / antimetabolito junto con otros agentes quimioterapéuticos, tales como agentes alquilantes (por ejemplo, cisplatino, carboplatino, estreptozocina, melfalan, clorambucil, carmustina, metcloretamina, lomustina, bisulfano, tiotepa, ifofamida, o ciclofosfamida); agentes hormonales (por ejemplo, estramustina, tamoxifeno, toremifeno, anastrozola, o letrozola); antibióticos (por

ejemplo, plicamicina, bleomicina, mitoxantrona, idarubicina, dactinomicina, mitomicina, doxorubicina, o daunorubicina); inmunomoduladores (por ejemplo, interferones, IL-2, o BCG); agentes antimitóticos (por ejemplo, vinblastina, vincristina, teniposida, o vinorelbina); inhibidores topoisomerasa (por ejemplo, topotecan, irinotecan, o etoposida); y otros agentes (por ejemplo, hidroxiurea, trastuzumab, altretamina, retuximab, paclitaxel, docetaxel, L-asparaginasa, o gemtuzumab ozogamicina).

De acuerdo a como se usa en esta invención, el régimen de combinación puede ser administrado simultáneamente en un régimen escalonado, dando el inhibidor mTOR en un tiempo diferente al del antimetabolito durante el curso de la quimioterapia. Este tiempo diferencial puede variar entre varios minutos, horas, días, semanas o un tiempo más largo entre la administración de los dos agentes. Por lo tanto, el término combinación no necesariamente significa ser administrado al mismo tiempo o como una dosis unitaria, sino que cada uno de los componentes sea administrado durante un período de tiempo deseado. Los agentes pueden también ser administrados por diferentes vías. Por ejemplo, en la combinación de un inhibidor mTOR más un antimetabolito, se anticipa que el inhibidor mTOR sea administrado oral o parenteralmente, siendo preferida la vía parenteral, mientras que el antimetabolito puede administrarse por vía parenteral, oral o por cualquier otro medio aceptable. Para el caso de la combinación CCI-779 con gemcitabina, se prefiere que la gemcitabina se administre parenteralmente. Para la combinación de CCI-779 con 5-y leucovorin, se prefiere que el 5-FU y el leucovorin se administren parenteralmente. Esta combinación puede ser administrada diaria, semanalmente o inclusive una vez al mes. Como es típico para los regímenes quimioterapéuticos, un programa de quimioterapia puede

repetirse varias semanas más tarde, y puede seguir la misma programación de administración para los dos agentes, o puede ser modificado con base en la respuesta del paciente.

En concordancia, esta invención también proporciona un producto que comprende un inhibidor mTOR y un agente antineoplásico antimetabolito como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de un neoplasma en un mamífero.

Como es típico en la quimioterapia, los regimenes de dosificación se monitorean estrictamente por parte del médico tratante, con base en numerosos factores que incluyen la severidad de la enfermedad, la respuesta a la enfermedad, cualquier toxicidad relacionada con el tratamiento, edad, salud del paciente, y otros desórdenes o tratamientos concomitantes.

Con base en los resultados obtenidos con las combinaciones del representante CCI-779 más el antimetabolito, se proyecta que la dosificación de infusión intravenosa (i.v.) inicial del inhibidor mTOR estará entre aproximadamente 0.1 y 100 mg/m², siendo preferible entre aproximadamente 2.5 y 70 mg/m². También se prefiere que el inhibidor mTOR sea administrado vía i.v. típicamente durante un período de 30 minutos, y aproximadamente una vez por semana. Las dosificaciones iniciales del componente antimetabolito dependerán del componente utilizado, y se basarán inicialmente en la experiencia del médico tratante con los agentes escogidos.

Con base en los resultados obtenidos con las combinaciones de CCI-779 más el antimetabolito, se proyecta que para la combinación del

inhibidor mTOR más la gemcitabina, la dosificación de infusión intravenosa (i.v.) inicial del inhibidor mTOR estará entre aproximadamente 0.1 y 100 mg/m², siendo preferible entre aproximadamente 2.5 y 70 mg/m², y la dosificación de infusión intravenosa (i.v.) inicial de la gemcitabina estará entre aproximadamente 400 y 1500 mg/m², siendo preferible entre aproximadamente 800 y 1000 mg/m². Se proyecta que inicialmente los pacientes recibirán una infusión i.v. por 30 minutos del inhibidor mTOR, seguido inmediatamente por o precedido por una infusión i.v. por 30 minutos de gemcitabina en los días 1 y 8 de un ciclo de tratamiento de 21 días. Después de uno o más ciclos de tratamiento, las dosificaciones pueden ajustarse hacia arriba o hacia abajo dependiendo de los resultados obtenidos y de los efectos colaterales observados.

Con base en los resultados obtenidos, cuando CCI-779 se usa en combinación con 5-FU y leucovorin, se proyecta que en un régimen de un inhibidor mTOR más 5-FU más leucovorin, la dosificación de infusión intravenosa (i.v.) inicial del inhibidor mTOR estará entre aproximadamente 0.1 y 100 mg/m², siendo preferible entre aproximadamente 2.5 y 70 mg/m²; la dosificación de infusión intravenosa (i.v.) inicial de leucovorin estará entre aproximadamente 50 y 500 mg/m², siendo preferible aproximadamente 200 mg/m²; y la dosificación de infusión intravenosa (i.v.) inicial del 5-FU estará entre aproximadamente 500 y 7500 mg/m², siendo preferible entre aproximadamente 1000 y 5000 mg/m². Se proyecta que inicialmente la combinación sea administrada de acuerdo con el siguiente régimen: los pacientes recibirán una infusión i.v. por 1 hora de leucovorin una vez por semana durante cada ciclo de tratamiento de 6 semanas; seguido inmediatamente a cada dosis de leucovorin, se administra el 5-FU como una infusión i.v. continua durante 24 horas. El inhibidor mTOR se

administrará al inicio del día 8, del ciclo 1, y se dará una vez por semana como una infusión i.v. durante 30 minutos. Cada ciclo de tratamiento de 6 semanas es seguido por una semana de descanso antes de comenzar el siguiente ciclo de tratamiento de 6 semanas. Después de uno o más ciclos de tratamiento, las dosificaciones pueden ajustarse hacia arriba o hacia abajo dependiendo de los resultados obtenidos y de los efectos colaterales observados.

Para los antimetabolitos comercialmente disponibles, la forma de dosificación existente puede ser utilizada, con dosificación dividida de ser necesario. Alternativamente, dichos agentes o antimetabolitos que no están comercialmente disponibles pueden ser formulados de acuerdo con la práctica farmacéutica estándar. Las formulaciones orales que contienen los componentes activos de esta invención pueden consistir de formas orales convencionalmente utilizadas, incluyendo tabletas, cápsulas, formas bucales, trociscos, pastillas y líquidos, suspensiones o soluciones orales. Las cápsulas pueden contener mezclas de los compuestos activos con rellenos inertes y/o diluyentes tales como almidones farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, almidón de maíz, papa o tapioca), azúcares, agentes endulzantes artificiales, celulosas en polvo, tales como celulosa cristalina y microcelulosa, harinas, gelatinas, gomas, etc. Las formulaciones en tableta útiles pueden hacerse mediante compresión convencional, métodos de granulación húmeda o seca y utilizar diluyentes farmacéuticos aceptables, agentes aglutinantes, lubricantes, desintegrantes, agentes modificadores de superficie (incluyendo surfactantes), agentes suspendentes o estabilizantes, incluyendo, pero no limitándose a, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, sulfato lauril de sodio, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa de calcio, polivinilpirrolidona, gelatina, ácido algínico, goma acacia, goma xantan,

213

citrato de sodio, complejos de silicatos, carbonato de calcio, glicina, dextrina, sucrosa, sorbitol, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, lactosa, caolin, manitol, cloruro de sodio, talco, almidones secos y azúcar en polvo. Los agentes modificantes de superficie preferidos incluyen agentes modificantes de superficie no iónicos y aniónicos. Ejemplos representativos de agentes modificantes de superficie incluyen, pero no se limitan a, poloxamer 188, cloruro de benzalconio, estearato de calcio, alcohol cetoestearal, cera emulsificante cetomacrogol, ésteres sorbitan, dióxido de silicio coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, silicato aluminio de magnesio, y trietanolamina. Las formulaciones orales usadas aquí pueden emplear formulaciones estándares de retraso o liberación para alterar la absorción del compuesto(s) activo. La formulación oral puede también consistir de administración del ingrediente activo en agua o un jugo de fruta, que contenga los solubilizantes o emulsificantes según sea necesario.

En algunos casos puede ser deseable administrar los compuestos directamente a las vías aéreas en forma de aerosol.

Los compuestos pueden también ser administrados parenteralmente o intraperitonealmente. Las soluciones o suspensiones de estos compuestos activos como una base libre o como una sal farmacéuticamente aceptable pueden prepararse en agua adecuadamente mezclada con un surfactante tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones pueden también prepararse en glicerol, polietilen glicoles líquidos y mezclas de los mismos en aceites. Bajo condiciones usuales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un preservativo para prevenir el crecimiento de microorganismos.

OK

Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de las soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser lo suficientemente fluida para permitir facilidad de envase en jeringa. Debe ser estable bajo las condiciones de manufactura y almacenamiento y debe ser protegida contra posible acción contaminante por parte de microorganismos tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o un medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilen glicol y polietilen glicol líquido), mezclas apropiadas de los mismos, y aceites vegetales.

Para el propósito de esta divulgación, se entiende que las administraciones transdérmicas incluyen todas las administraciones a través de la superficie del cuerpo y de las capas internas de los pasajes corporales incluyendo los tejidos mucosos y epiteliales. Tales administraciones pueden realizarse empleando los compuestos actuales, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en lociones, cremas, espumas, parches, suspensiones, soluciones y supositorios (rectal y vaginal).

La administración transdérmica puede lograrse a través del uso de un parche transdérmico que contenga el compuesto activo y un portador que sea inerte al compuesto activo, que sea no tóxico a la piel, y que permita la liberación del agente por absorción sistémica hacia el torrente sanguíneo a través de la piel. El portador puede tomar un número cualquiera de formas tales como cremas y ungüentos, pastas, geles, y dispositivos oclusivos. Las cremas y ungüentos pueden ser líquidos viscosos o emulsiones semisólidas del tipo aceite-en-agua o

agua-en-aceite. También son viables las pastas que se componen de polvos absorbentes dispersos en petróleo o petróleo hidrofílico que contengan el ingrediente activo. Una variedad de dispositivos oclusivos pueden ser usados para liberar el ingrediente activo hacia el torrente sanguíneo tales como una membrana semi-permeable que cubra un reservorio que contenga el ingrediente activo con o sin un portador, o una matriz que contenga el ingrediente activo. Otros dispositivos oclusivos se conocen en la literatura.

Las formulaciones supositorias pueden hacerse a partir de materiales tradicionales, incluyendo la manteca de cacao, con o sin adición de ceras para alterar el punto de fusión de supositorio, y glicerina. Las bases supositorias solubles en agua, tales como polietilen glicoles de varios pesos moleculares, pueden también ser usadas.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación antineoplásica que comprende una cantidad efectiva de una rapamicina y un compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina.

2. La combinación de la reivindicación 1 que comprende además un compuesto seleccionado entre leucovorina y levofolinato.

3. La combinación de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la rapamicina es rapamicina.

4. La combinación de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la rapamicina es 42-O-(2-hidroxietil) rapamicina.

5. La combinación de la reivindicación 1 o a la reivindicación 2, en donde la rapamicina es rapamicina 42-éster con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico.

6. Un producto que comprende una rapamicina y un compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina como una preparación combinada para uso simultáneo, secuencial o separado en el tratamiento de un neoplasma en un mamífero.

217

7. El producto de la reivindicación 6, que además comprende un compuesto seleccionado de leucovorina y levofolinato.

8. El producto de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en donde la rapamicina es rapamicina.

9. El producto de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en donde la rapamicina es 42-O-(2-hidroxi)etil rapamicina.

10. El producto de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en donde la rapamicina es rapamicina 42-éster con ácido 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropiónico.

11. El producto de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en donde la rapamicina, el compuesto seleccionado entre 5-fluorouracil y gemcitabina, o ambos, son proporcionados en cantidades subterapéuticamente efectivas.

157