

cm

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-022055- -00000-0000

Fecha: 2014-02-03 16:40:41 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra 11 PATENTEIYII Eva. 379 FASENACIONALII
Act 411 PRESENTACION Folios: 2 9

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

LIBRADA EN FASE NACIONAL

21. **EXPEDIENTE No.** _____

MÉTODO PARA TRATAR EL CÁNCER MEDIANTE EL USO DE UN AGENTE

54. **TITULO** _____

DE FARMACOS

51. **CLASIFICACION INTERNACIONAL** _____

71. **SOLICITANTE** _____

STELLUS PHARM CO INC

DOMICILIO _____

TURQUÍA

74. **APODERADO** _____

DR. PABLO GARCIA SUAREZ

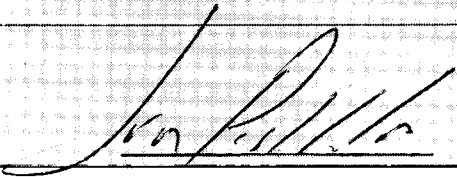
22. **BOGOTÁ, D.C.** _____

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 14-022055- -00000-0000 Fecha 2014-02-03 16:40:41 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 379 FASENACIONALII Act. 411 PRESENTACION Folios: 8-9 licación
---	---

AS. 127.149

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL –PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☐ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☒ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/JP2012/069586	Fecha 01.08.2012
Publicación Internacional No.		WO 2013/018829	Fecha 07.02.2013
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
MÉTODO PARA TRATAR EL CÁNCER MEDIANTE EL USO COMBINADO DE FÁRMACOS			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
1. ASTELLAS PHARMA INC.			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		3-11, Nihonbashi-Honcho 2-chome, Chuo-ku, 103-8411	No. TELÉFONO
CIUDAD		Tokio	CORREO ELECTRÓNICO
DEPARTAMENTO/ESTADO			NACIONALIDAD O JP
PAÍS DE RESIDENCIA		JP	LUGAR DE CONSTITUCIÓN
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. ARAI		Yukinori	JP
2.			
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
1. JP		Tokio	c/o Astellas Pharma Inc., 3-11, Nihonbashi-Honcho 2-chome, Chuo-ku, 103-8411
2.			
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja de información complementaria.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
CADENA SARMIENTO		JUAN PABLO	C.C. 80.410.337 T.P. 57492
DIRECCIÓN		Calle 70A 4 41	No. TELÉFONO 7442200
CIUDAD		Bogotá, D.C.	CORREO ELECTRÓNICO
PAÍS		CO	No. RADICACIÓN O PROTOCOLO DE PODER GENERAL
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO
1. JP		JP	2011-169073
2.			(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
			2011/08/02

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado o número de registro.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas ☐			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	No. 14-3894, 14-4147	Fecha: 29.01.2014
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL <i>Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)</i>		
			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. ☒ Descripción N° de folios: 5-49		9. ☒ Poderes, si fuera el caso.	
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 19		10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.	
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios:		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☒ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar:	
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2013 年 2 月 7 日(07.02.2013)



(10) 国際公開番号
WO 2013/018829 A1

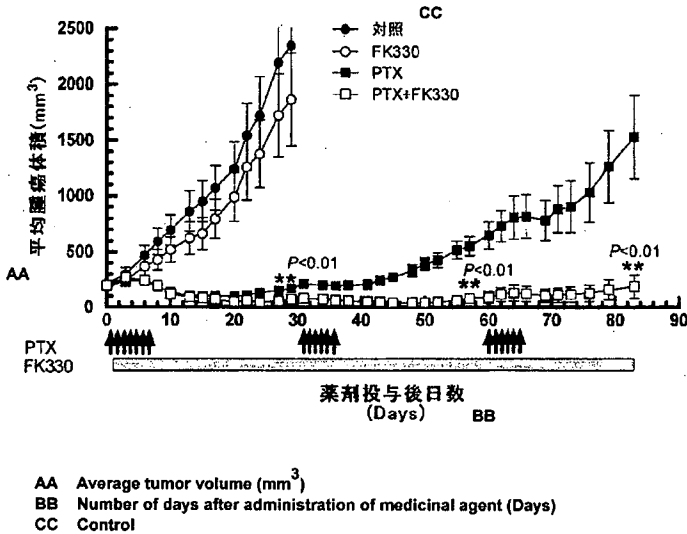
- (51) 国際特許分類:
A61K 31/506 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01) C07D 401/14 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/069586
- (22) 国際出願日: 2012 年 8 月 1 日(01.08.2012)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2011-169073 2011 年 8 月 2 日(02.08.2011) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): アステラス製薬株式会社 (Astellas Pharma Inc.) [JP/JP]; 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目 3 番 1 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 荒井 幸規 (ARAI, Yukinori) [JP/JP]; 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目 3 番 1 1 号 アステラス製薬株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 森田 拓, 外 (MORITA, Hiroshi et al.); 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目 3 番 1

- 1 号 アステラス製薬株式会社 知的財産部内 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロシヤ (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: METHOD FOR TREATING CANCER BY COMBINED USE OF MEDICINAL AGENTS

(54) 発明の名称: 薬剤の併用による癌治療方法

図 7



させる治療方法が求められている。

(57) Abstract: [Problem] There have been demands for a therapeutic method that increases the medicinal effects of taxane-based antitumor agents on various tumors. [Solution] As a result of researches for a method for enhancing the antitumor effects of taxane-based antitumor agents, the inventors have achieved the present invention by confirming that a composition for the treatment of cancer, said composition containing N²-[(2E)-3-(4-chlorophenyl)-2-propenoyl]-N-[2-oxo-2-(4-[[6-(trifluoromethyl)pyrimidin-4-yl]oxy]piperidin-1-yl)ethyl]-3-pyridin-2-yl-L-alaninamide (FK330) or a salt thereof as an active ingredient, enhances the antitumor effects of taxane-based antitumor agents. Namely, the present invention relates to a composition for the treatment of cancer, which contains FK330 or a salt thereof as an active ingredient, and which is for administration in combination with one or more antitumor agents that are selected from among taxane-based antitumor agents.

(57) 要約: 【課題】 タキサン系抗腫瘍剤の、各種腫瘍に対する薬効を増大

[続葉有]

WO 2013/018829 A1



【解決手段】本発明者は、タキサン系抗腫瘍剤の抗腫瘍作用増強方法について検討した結果、 N^2 -[(2E)-3-(4-クロロフェニル)-2-プロペノイル]-N-[2-オキシ-2-(4-{[6-(トリフルオロメチル)ピリミジン-4-イル]オキシ}ピペリジン-1-イル)エチル]-3-ピリジン-2-イル-L-アラニンアミド（FK330）又はその塩を有効成分として含有する癌治療用組成物が、タキサン系抗腫瘍剤の抗腫瘍作用を増強させることを確認し、本発明を完成した。即ち、本願は、タキサン系抗腫瘍剤から選択される1以上の抗腫瘍剤との併用投与用である、FK330 又はその塩を有効成分として含有する癌治療用組成物に関する。



Brigard & Castro
BOGOTÁ - COLOMBIA

AS 107619

PODER

Yo (nosotros)

domiciliado(s) en

Nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o CARLOS H. PALACIO EASTMAN y/o MARTIN E. TORRES CARDOZO**, de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales, lemas comerciales y enseññas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre y/o domicilio; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores, dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros intereses), con todas las demás facultades legales necesarias.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o CARLOS H. PALACIO EASTMAN y/o MARTIN E. TORRES CARDOZO**, domiciliado(s) en la Carrera 7 No. 16-56 Piso 9, mis (nuestros) apoderados en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en

hoy de de 200_

Firma

Nombre
Cargo

POWER OF ATTORNEY

I (We) **ASTELLAS PHARMA INC.**

domiciled at 3-11, Nihonbashi-Honcho 2-chome, Chuo-ku, Tokyo 103-8411 Japan

Hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** and/or **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** and/or **MARTIN E. TORRES CARDOZO**, of Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names, slogans and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificates of obtainers of vegetables varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any Judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, action of unfair competition; criminal proceedings; actions for payment of damages; claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures and in other actions or similar proceedings.

To that effect they hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations; oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kinds of documents and valuables, giving the respective release of receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

This power includes the faculty to ratify or confirm desist, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. At the same time I (We) hereby appoint **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** and/or **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** and/or **MARTIN E. TORRES CARDOZO**, domiciled in Carrera 7 No. 16-56, Piso 9, my (our) attorney(s) in fact, with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.

Granted and signed in

this day of 2008

Signature

Name Yuji WATANABE
Title Vice President, Intellectual Property

AS. 129.149 6

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 003894

Bogotá D.C., Enero 15 de 2014 - 08:44:46

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.

NI 860.047.372

RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	3476	14/01/2014		117.576.000.00
RECIBO DE CA	999999999	3489	14/01/2014		6.150.000.00

*** Conceptos Pagados ***

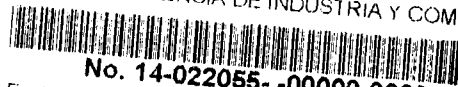
CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
			\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-022055-00000-0000

Fecha 2014-02-03 16:40:41 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 41i PRESENTACION Folios 29

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.slc.gov.co e-mail: info@slc.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Enero 15 de 2014 - 08:45:11

15.127.149 7

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



RECIBO DE CAJA

No. 14 - 004147

Bogotá D.C., Enero 15 de 2014 - 09:01:12

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.

NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	3970	15/01/2014		48.451.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
9 50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	31.000.00	279.000.00
				\$279.000.00

SON. **DOSCIENTOS SETENTA Y NUEVE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-022055- -00000-0000

Fecha: 2014-02-03 16:40:41 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act: 411 PRESENTACION Folios: 8 y 9

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Enero 15 de 2014 - 09:40:18

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: <u>2014</u> / <u>02</u> / <u>03</u> AAAA MM DD 2014	
		Recorrido: 4	
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-22055	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones:

EL CD ANEXO CONTIENE UN TOTAL DE 2 ARCHIVOS:

2 EN FORMATO PDF, (2) CUALES FUERON PROCESADOS.

EL CD SE ENCUENTRA UBICADO EN EL FOLIO (8)

J



No. 14-022055- -00000-0000

Fecha: 2014-02-03 16:40:41 Dep. 2020 DIR.NUEVASC
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios 89

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDA

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Descripción de la invención
 - ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☐ Indicación que se solicita una PCT
 - ☐ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
 - ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita 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 ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

MÉTODO PARA TRATAR EL CÁNCER MEDIANTE EL USO COMBINADO DE FÁRMACOS

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a una medicina, particularmente a una composición para el tratamiento contra el cáncer que se usará en combinación con agentes antitumorales de la familia del taxano, que comprende N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-L-alaninamida o una sal de la misma como ingrediente activo.

Antecedentes de la Invención

En la quimioterapia contra tumores malignos, agentes antitumorales de la familia del taxano, particularmente paclitaxel y docetaxel se usan como fármacos eficaces para un número de carcinomas.

Los agentes antitumorales de la familia del taxano son conocidos por inhibir la división celular cancerosas al inhibir la despolimerización de los microtúbulos, que son necesarios para la división celular. El paclitaxel se usa en el tratamiento contra el cáncer ovárico, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de mama, cáncer gástrico y similares, y el docetaxel se usa en el tratamiento contra el cáncer de mama, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y de cuello, cáncer ovárico, cáncer de esófago, cáncer uterino y similares.

En el campo clínico, para el propósito de aumentar la eficacia del fármaco o de expandir el espectro anticáncer, se practica la terapia de combinación de múltiples fármacos que combina un agente antitumoral de la familia del taxano y otro agente antitumoral que tienen un diferente mecanismo de acción. Por ejemplo, se conoce usar paclitaxel y carboplatino en combinación (Cancer, 1996, 77:2458-63), docetaxel y cisplatino en combinación (Eur. J. Surg. Oncol. 2006, 32(3), 297-302) o similares. Además, en varias bases de datos proporcionadas por la U.S. Food and Drug Administration (FDA), por ejemplo, en la "Drugs @ FDA" (<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>) o en el sitio web de la European Medicines Agency (EMA) (<http://www.ema.europa.eu/>), se describen regímenes clínicos para usar paclitaxel o docetaxel con otros agentes antitumorales en combinación.

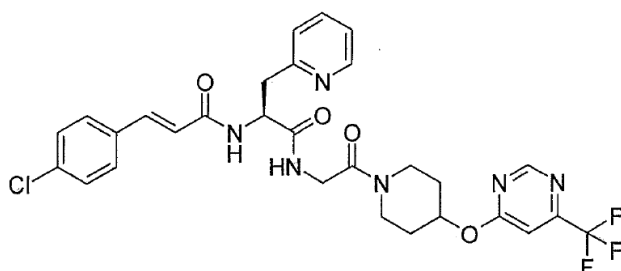
En general, si la dosificación de un agente antitumoral se aumenta, los

efectos secundarios también aparecen proporcionalmente a los mismos, y así, es necesario tomar precaución en la administración del agente antitumoral. Por lo tanto, en lo que respecta a la administración de un agente antitumoral, la dosis tolerada máxima (MTD, por sus siglas en inglés) se ajusta desde el punto de vista de los efectos secundarios, y la dosificación es limitada. Además, por ejemplo, de acuerdo con el inserto de empaque de Taxol Injection (marca registrada; nombre comercial del paclitaxel) en un sitio web para proporcionar la información en productos farmacéuticos e instrumentos médicos en Japón, se describe que el paclitaxel "es administrado mediante infusión intravenosa en una cantidad de 210 mg/m² una vez al día durante 3 horas, y retirado por lo menos 3 semanas. La administración es repetida al definir esta como un ciclo. Mientras tanto, la dosificación se aumenta o se disminuye apropiadamente dependiendo de la edad y de los síntomas". Como tal, el paclitaxel se especifica con respecto a la dosis así como al método de administración. Además, también se describe para Taxotere Injection (marca registrada: nombre comercial del docetaxel) que "la dosis simple máxima es 70 mg/m²", y la dosis se indica.

Por una parte, un derivado de péptido que tiene una buena actividad inhibidora de la sintasa (NOS, por sus siglas en inglés) del óxido nítrico (NO, por sus siglas en inglés) se describe en el documento WO 02/055541 (Documento de Patente 1). Particularmente, se describe que la N²-[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-L-alaninamida (también llamada FR260330 o FK330) representada por la siguiente fórmula, que se describe en el Ejemplo 41 del folleto relevante, exhibe una excelente actividad inhibidora de la sintasa de óxido nítrico inducible (NOS inducible, iNOS) (Documento no Relacionado con Patente 1). Además, se reporta que FK330 es eficaz como un modelo de rechazo crónico para el trasplante de la aorta de rata (Documento no Relacionado con Patente 2). También, ya se ha reportado que el compuesto es eficaz para la isquemia renal/lesión por reperfusión del mono e isquemia/lesión por reperfusión en el trasplante de hígado de rata (Documentos no Relacionados con Patentes 3 y 4); que el compuesto suprime la fibrosis inducida por un aumento en TGFβ_i o la activación de células radiadas y es eficaz para el tratamiento de la cirrosis del hígado (Documento de Patente 2 y Documento no Relacionado con Patente 5); y que el compuesto es también eficaz para la queratosis inflamatoria, la queratosis,

o las enfermedades de piel inflamatorias (Documento de Patente 3).

Fórmula Química 1



En vista de iNOS, la expresión se reconoce en varios tipos de células como células epiteliales, células musculares lisas, macrófagos y similares, y la expresión de los mismos es inducida en el nivel de transcripción mediante citocinas o similares inducidos mediante infección, inflamación o similares, de modo que NO es producido. iNOS está a cargo de la función como un mediador central en infecciones, biofilaxis, y similares.

Se ha encontrado por numerosos estudios conducidos hasta el momento, que NO promueve el progreso o la metástasis del cáncer, y también suprime el progreso o la metástasis del cáncer. Se ha reportado que la acción de NO en cáncer es dependiente en la actividad o la localización de las isoformas de NO, la concentración o el período de tiempo de la exposición a NO, y la sensibilidad celular a NO (Documento no Relacionado con Patente 6), y la investigación fisiológica sobre el cáncer se está conduciendo en los aspectos de la promoción de la producción de NO y de la supresión de la producción de NO. Por lo tanto, constantes opiniones no se han obtenido en las cuales la promoción de producción de NO y la inhibición de producción de NO es mejorada para la aplicación en el tratamiento contra el cáncer (Documentos no Relacionados con Patentes 7 y 8).

Los Documentos no Relacionados con Patentes 9 y 10 describen que en células cancerosas ováricas humanas o células cancerosas de cabeza y de cuello, una baja concentración de NO tiende a suprimir la apoptosis causada por cisplatino y paclitaxel, mientras que una alta concentración de NO promueve la apoptosis. En estos documentos, también se describe que el uso combinado de un inhibidor de iNOS, 1400W, y survivina RNAi promueve la apoptosis causada por cisplatino así como paclitaxel. Así, puede decirse que el efecto de protección de la célula de NO no es una acción selectiva de paclitaxel.

Técnica Relacionada

Documentos de Patente

[Documento de Patente 1] WO 02/055541

[Documento de Patente 2] Número de Patente Japonesa 3700854

[Documento de Patente 3] JP-A-2006-008621

Documento no Relacionado con Patente

[Documento no Relacionado con Patente 1] European Journal of Pharmacology 509, 71, (2005)

[Documento no Relacionado con Patente 2] Transplantation 79, 1386 (2005)

[Documento no Relacionado con Patente 3] Transplantation 81,4, 627 (2006)

[Documento no Relacionado con Patente 4] American Journal of Transplantation 6, 9, 2013 (2006)

[Documento no Relacionado con Patente 5] Wound Repair and Regeneration 15, 881 (2007)

[Documento no Relacionado con Patente 6] Nature Reviews Cancer, 6(7), 521-34 (2006)

[Documento no Relacionado con Patente 7] Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 67, 1211-1224(2011)

[Documento no Relacionado con Patente 8] Nitric Oxide 19, 158-163 (2008)

[Documento no Relacionado con Patente 9] Cancer Research, 68, 5158-5166 (2008)

[Documento no Relacionado con Patente 10] International Journal of Cancer, 124, 2033-2041 (2009)

Breve Descripción de la Invención

Problemas que se Solucionarán por la Invención

Los agentes antitumorales de la familia del taxano son útiles para el tratamiento de varios tumores, pero debido a sus efectos secundarios, existen limitaciones en la dosificación o el uso. Así, existe una fuerte demanda por un método terapéutico que además aumente la eficacia contra varios tumores sin el aumento de la dosificación. También, existe un problema de resistencia adquirida por el cual el efecto antitumoral es atenuado a medida que se continúa el tratamiento, aunque el agente antitumoral es eficaz al principio del tratamiento.

Medios para Solucionar los Problemas

Los inventores de la presente invención condujeron una investigación

cuidadosa del método para mejorar el efecto antitumoral de los agentes antitumorales de la familia del taxano, y como un resultado, encontraron sorpresivamente que cuando la N²-[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-iletíl)-3-piridin-2-il-1-alaninamida se usa en combinación, significativamente se alcanza el mejoramiento del efecto antitumoral, y encontraron el mecanismo del efecto de mejora. Así, los inventores terminaron la presente invención.

Es decir, la presente invención se relaciona con:

(1) una composición para el tratamiento contra el cáncer, que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo, que se usa para la administración combinada junto con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano.

Se muestran las modalidades adicionales a continuación.

(2) la composición descrita en el punto (1), que se usa para la administración combinada junto con paclitaxel o docetaxel.

(3) la composición descrita en el punto (2), que se usa para la administración combinada junto con paclitaxel.

(4) la composición descrita en el punto (2), que se usa para la administración combinada junto con docetaxel.

(5) la composición descrita en los puntos (1) a (4), que es una composición para la administración oral que comprende FK330 o una sal del mismo en una cantidad de 60 mg/día a 1200 mg/día.

(6) la composición descrita en el punto (5), que es una composición para la administración oral que comprende FK330 o una sal del mismo en una cantidad de 60 mg/día a 200 mg/día.

(7) la composición descrita en los puntos (1) a (6), que se usa para la administración combinada en la combinación adicional con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia de platino, de agentes antitumorales de la familia de antraciclina, de ciclofosfamida, de fluorouracilo, de trastuzumab, y de capecitabina.

(8) la composición descrita en los puntos (1) a (6), que se usa para la administración combinada de uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano en por lo menos un día durante un ciclo de administración.

(9) la composición descrita en el punto (8), que se usa para la

administración combinada de uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano en por lo menos uno de los días de la administración.

(10) la composición descrita en el punto (8), que se usa para la administración combinada de uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de los agentes antitumorales de la familia del taxano todos los días durante un ciclo de administración.

Además, la presente invención se relaciona con las siguientes invenciones.

(11) La composición para el tratamiento contra el cáncer descrito en los puntos (1) a (6), que se administra con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano de manera simultánea, separada, continua, o con un intervalo.

(12) Una composición para el tratamiento contra el cáncer para tratar un sujeto que está experimentando la terapia con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, donde la composición comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo.

(13) La composición para el tratamiento contra el cáncer descrita en el punto (12), que es para el tratamiento contra el cáncer en el cual se usan agentes antitumorales de la familia del taxano.

(14) La composición para el tratamiento contra el cáncer descrita en el punto (13), donde el cáncer para el cual los agentes antitumorales de la familia del taxano se usan es el cáncer de pulmón de células no pequeñas.

(15) La composición para el tratamiento contra el cáncer descrita en el punto (13), donde el cáncer para el cual los agentes antitumorales de la familia del taxano se usan es el cáncer de mama.

Además, la presente invención se relaciona con las siguientes invenciones.

(16) Un método para tratar el cáncer, que comprende combinar uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano en una cantidad terapéuticamente eficaz que se usa para la terapia de combinación, y FK330 o una sal del mismo en una cantidad terapéuticamente eficaz que se usa para la terapia de combinación; y administrar la combinación a un sujeto.

(17) Un método para tratar el cáncer, que comprende administrar uno

o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano en una cantidad terapéuticamente eficaz que se usa para la terapia de combinación, y FK330 o una sal del mismo en una cantidad terapéuticamente eficaz que se usa para la terapia de combinación, a un sujeto de manera simultánea, separada, continua, o con un intervalo.

Mientras tanto, el término "sujeto" es un humano u otro animal en necesidad de la prevención o del tratamiento del mismo, y de acuerdo con cierta modalidad, un humano en necesidad de la prevención o del tratamiento del mismo.

Además, la presente invención se relaciona con las siguientes invenciones.

(18) El uso de FK330 o una sal del mismo para la fabricación de una composición para el tratamiento contra el cáncer, que se usa para la administración combinada junto con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano.

(19) FK330 o una sal del mismo, para el uso del tratamiento contra el cáncer, que se usa para la administración combinada junto con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano.

(20) Un cáncer que trata el agente que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo, que se administra en combinación con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano.

(21) Un mejorador del efecto antitumoral para uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo.

(22) Un agente para suprimir o prevenir la resistencia para uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo.

(23) Un mejorador de sensibilidad para uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo.

Efectos de la Invención

Puesto que una mejora del efecto de tratamiento contra el cáncer de los agentes antitumorales de la familia del taxano es alcanzada por el uso combinado de la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo y un agente antitumoral de la familia del taxano, la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención se puede usar en combinación con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, para el tratamiento de varios cánceres a los cuales los agentes antitumorales de la familia del taxano existentes se conocen como adaptados. Los cánceres que se adaptarán para incluir tumores sólidos y el linfoma para los cuales se usan los agentes antitumorales de la familia del taxano.

Breve Descripción de los Dibujos

La FIG. 1 es una gráfica que ilustra el efecto antitumoral en la administración simple o la administración combinada de FK330 y de doxorubicina en el Ejemplo 1. Dox representa doxorubicina.

La FIG. 2 es una gráfica que ilustra el efecto antitumoral en la administración simple o la administración combinada de FK330 y de gemcitabina en el Ejemplo 1. Gem representa gemcitabina.

La FIG. 3 es una gráfica que ilustra el efecto antitumoral en la administración simple o la administración combinada de FK330 e irinotecan en el ejemplo 1. Iri representa irinotecan.

La FIG. 4 es una gráfica que ilustra el efecto antitumoral en la administración simple o la administración combinada de FK330 y de carboplatino en el Ejemplo 1. CBDCA representa carboplatino.

La FIG. 5 es una gráfica que ilustra el efecto antitumoral en la administración simple o la administración combinada de FK330 y de paclitaxel en el Ejemplo 1. PTX representa paclitaxel.

La FIG. 6 es una gráfica que ilustra el efecto antitumoral en la administración simple o la administración combinada de FK330 y de docetaxel en el Ejemplo 1. Doce representa docetaxel.

La FIG. 7 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 2 en los cuales se investigó el efecto antitumoral que mejora la acción de FK330 al momento de la administración de mult ciclo del paclitaxel en ratones portadores de tumor del cáncer de pulmón humano de células no pequeñas (Calu-6). PTX representa paclitaxel.

La FIG. 8 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 3 en los cuales la dependencia de dosis de FK330 en la acción de mejora en el efecto antitumoral del paclitaxel se investigó en ratones portadores de tumor del cáncer de pulmón humano de células no pequeñas (Calu-6). PTX representa paclitaxel.

La FIG. 9 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 4 en los cuales las sincronizaciones de administración de FK330 se investigaron en ratones portadores de tumor del cáncer de pulmón humano de células no pequeñas (Calu-6). PTX representa paclitaxel.

La FIG. 10. es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 5 en los cuales la acción de mejora de FK330 en el efecto antitumoral del paclitaxel se investigó en ratones portadores de tumor del cáncer gástrico humano (AZ-521, por sus siglas en inglés). PTX representa paclitaxel.

La FIG. 11 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 5 en los cuales la acción de mejora de FK330 en el efecto antitumoral del paclitaxel se investigó en ratones portadores de tumor del cáncer gástrico humano (MKN-28, por sus siglas en inglés). PTX representa paclitaxel.

La FIG. 12 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 5 en los cuales la acción de mejora de FK330 en el efecto antitumoral del paclitaxel se investigó en ratones portadores de tumor del cáncer gástrico humano (NCI-N87, por sus siglas en inglés). PTX representa paclitaxel.

La FIG. 13 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 6 en los cuales la acción de mejora de FK330 en el efecto antitumoral del paclitaxel se investigó en ratones portadores de tumor del cáncer de mama humano (MDA-MB-231, por sus siglas en inglés). PTX representa paclitaxel.

La FIG. 14 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 7 en los cuales la acción inhibidora de SNAP, que es un donante de NO, en la acción de polimerización de tubulina inducida por taxano se investigó. (A) y (B) indican un ejemplo representativo de la acción inhibidora de SNAP en la polimerización de tubulina inducida por paclitaxel, y los valores de resumen a 60 minutos después de la iniciación de la polimerización de tubulina, respectivamente. PTX representa paclitaxel, y SNAP representa S-nitroso-N-acetil-D,L-penicilamina.

La FIG. 15 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 7 en los cuales se investigó la acción inhibidora de SNAP, que es un donante de NO, con respecto a la acción de polimerización de tubulina inducida por taxano.

(A) y (B) indican un ejemplo representativo de la acción inhibidora de SNAP en la polimerización tubulina inducida por docetaxel, y los valores de resumen a 60 minutos después de la iniciación de la polimerización de tubulina, respectivamente. PTX representa docetaxel, y SNAP representa S-nitroso-N-acetil-D,L-penicilamina.

La FIG. 16 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 8 en los cuales se investigó la acción del paclitaxel solo y del paclitaxel en combinación con FK330 en la expresión de la proteína iNOS en los tejidos tumorales en ratones portadores de tumor Calu-6 de línea celular del cáncer de pulmón humano. PTX representa paclitaxel.

La FIG. 17 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 8 en los cuales la acción del paclitaxel solo y del paclitaxel en combinación con FK330 en la infiltración del macrófago (F4/80) en los tejidos tumorales en ratones portadores de tumor Calu-6 de línea celular del cáncer de pulmón humano se investigó. PTX representa paclitaxel.

La FIG. 18 es una gráfica que ilustra los resultados del Ejemplo 8 en los cuales se investigó la acción del paclitaxel solo y del paclitaxel en combinación con FK330 en la producción de la nitrotirosina (producto final importante de NO) en los tejidos tumorales en ratones portadores de tumor del cáncer de pulmón de línea celular Calu-6 humano. PTX representa paclitaxel.

Descripción Detallada de la Invención

Más adelante, la presente invención será descrita detalladamente.

La "composición para el tratamiento contra el cáncer" de la presente invención es una composición farmacéutica para el uso combinado con un agente antitumoral de la familia del taxano, y de acuerdo con otra modalidad, la composición de la invención es una composición farmacéutica para mejorar el efecto antitumoral de un agente antitumoral de la familia del taxano.

El "cáncer" en vista de la "composición para el tratamiento contra el cáncer" de la presente invención incluye cánceres para los cuales se usan agentes antitumorales de la familia del taxano, es decir, todos los tumores sólidos y linfomas para los cuales se usan agentes antitumorales de la familia del taxano. De acuerdo con una modalidad, los ejemplos del cáncer incluyen cáncer de mama, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer prostático, cáncer de pulmón, cáncer gástrico (glándula gástrica), cáncer de pulmón, de células no pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de célula escamosa de cabeza y

cuello, cáncer del esófago, cáncer de vejiga urinaria, melanoma, cáncer de colon, cáncer de renal célula, linfoma de no Hodgkin, cáncer urotelial y similares. De acuerdo con otra modalidad, los ejemplos del cáncer incluyen cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer prostático, cáncer gástrico (glándula gástrica), cáncer de pulmón de células no pequeñas y similares. De acuerdo con otra modalidad, los ejemplos del cáncer incluyen cáncer de mama, cáncer gástrico (glándula gástrica), cáncer de pulmón de células no pequeñas y similares, y de acuerdo con aún otra modalidad, los ejemplos del cáncer incluye cáncer de mama, mientras que de acuerdo con aún otra modalidad, los ejemplos del cáncer incluye cáncer de pulmón de células no pequeñas.

De acuerdo con otra modalidad del cáncer de mama, los ejemplos del mismo incluyen cáncer de mama metastático positivo HER2, cáncer de mama metastático negativo HER2, cáncer de mama positivo a HER2, y cáncer de mama metastático. De acuerdo con otra modalidad, los ejemplos del cáncer de mama incluyen el cáncer de mama metastático negativo a HER2, y según aún otra modalidad, ejemplos del mismo incluye el cáncer de mama metastático positivo a HER2.

De acuerdo con otra modalidad del cáncer de pulmón de células no pequeñas, los ejemplos del mismo incluyen el cáncer de pulmón de células no pequeñas localmente avanzado y el cáncer de pulmón metastático de células no pequeñas. De acuerdo con otra modalidad, los ejemplos del cáncer de pulmón de células no pequeñas incluyen el cáncer de células no escamosas, y de acuerdo con aún otra modalidad, ejemplos del mismo incluyen cáncer de células no escamosas en cáncer de pulmón metastático de células no pequeñas, mientras que de acuerdo con aún otra modalidad, los ejemplos del mismo incluyen cáncer de células escamosas en cáncer de pulmón metastático de células no pequeñas.

De acuerdo con otra modalidad del cáncer gástrico, los ejemplos de la misma incluyen cáncer gástrico metastático, cáncer de unión gastroesofágica metastático y similares.

De acuerdo con otra modalidad del cáncer prostático, los ejemplos de la misma incluyen cáncer prostático resistente a castración metastático, cáncer prostático resistente a hormonas y similares. De acuerdo con otra modalidad, los ejemplos del cáncer prostático incluyen cáncer prostático resistente a hormonas, y de acuerdo con aún otra modalidad, ejemplos de los mismos incluyen cáncer prostático resistente a castración metastático.

FK330 o una sal del mismo como se usa en la presente invención es un compuesto del Ejemplo 41 del documento WO 02/055541, y el compuesto se puede obtener fácilmente mediante el método de producción descrito en el documento de patente relevante.

FK330 es un isómero óptico de forma (S) basado en la presencia de cualquier átomo de carbono asimétrico, pero puede también incluir el isómero óptico de forma (R).

Además, una sal de FK330 de acuerdo con la presente invención es una sal farmacéuticamente aceptable de FK330, y los ejemplos específicos del mismo incluyen sales de adición ácida de ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; y ácidos orgánicos como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido láctico, ácido málico, ácido mandélico, ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido ditoluiltartárico, ácido cítrico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido bencensulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido aspártico, ácido glutámico y similares. Estas sales de adición ácida pueden ser producidas al someter el compuesto a una reacción formadora de sal de acuerdo con un método convencional.

Además, FK330 o una sal del mismo de acuerdo con la presente invención se puede usar como varios hidratos o solvatos, y sustancias polimórficas cristalinas. Además, FK330 o una sal del mismo también incluye compuestos etiquetados con varios isótopos radiactivos o no radiactivos.

FK330 o una sal del mismo como se usa en la presente invención es un anhídrido de forma libre de acuerdo con una modalidad. De acuerdo con otra modalidad, FK330 o una sal del mismo es un dihidrato de forma libre. Por ejemplo, cuando el FK330 de forma libre obtenible mediante el método descrito en el Ejemplo 41 del documento WO 02/055541 se somete a recristalización en un sistema solvente de alcohol/agua, por ejemplo, en etanol/agua, isopropanol/agua o similares, y los cristales así obtenidos se secan bajo presión reducida, un anhídrido de forma libre puede ser obtenido. Además, los cristales de un dihidrato de forma libre pueden ser obtenidos al someter el anhídrido de forma libre así obtenido a una operación de humectación.

Una composición farmacéutica que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo puede ser preparada al usar excipientes,

es decir, excipientes farmacéuticos y portadores farmacéuticos, que se usan convencionalmente en la técnica, de acuerdo con un método convencionalmente usado.

La administración puede lograrse mediante la administración oral por medio de tabletas, píldoras, cápsulas, gránulos, polvos, líquidos, y similares; o mediante la administración parenteral por medio de preparaciones inyectables intraarticulares, intravenosas, e intramusculares, y similares. De acuerdo con una modalidad, la administración es lograda mediante la administración oral por medio de tabletas, píldoras, cápsulas, gránulos, polvos, líquidos, y similares.

Como composiciones sólidas para la administración oral, se usan tabletas, polvos, gránulos, y similares. En tal composición sólida, una clase o dos o más clases de ingredientes activos se mezclan con por lo menos un excipiente inerte. La composición puede además contener aditivos inertes, por ejemplo, un agente lubricante, un desintegrante, un estabilizador, y agente solubilizante, de acuerdo con un método convencional. Las tabletas o las píldoras se pueden recubrir con un recubrimiento de azúcar, o una película de una sustancia gástrica o entérica, como sea necesario.

Las composiciones líquidas para la administración oral incluyen emulsiones farmacéuticamente aceptables, soluciones, suspensiones, jarabes, elixires y similares, y tal composición líquida contiene un diluyente inerte que se usa generalmente, por ejemplo, agua purificada o etanol. La composición líquida puede además contener adyuvantes como un solubilizante, un agente humectante, o un agente de suspensión, un agente saborizante, una sustancia aromática, un agente aromático, y un agente antiséptico, además de los diluyentes inertes.

Las preparaciones inyectables para la administración parenteral incluyen soluciones estéril, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas. Los ejemplos de solventes acuosos incluyen agua destilada para inyección, y solución salina fisiológica. Los ejemplos de solventes no acuosos incluyen alcoholes como etanol. Tal composición puede contener además a un agente isotonzante, un agente antiséptico, un agente humectante, un emulsionante, un dispersante, un estabilizante, o un agente solubilizante. Estas preparaciones se esterilizan mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro retención de bacterias, incorporación de un desinfectante, o irradiación. Además, estas preparaciones pueden prepararse al preparar una

composición sólida estéril, y disolver o suspender la composición sólida en agua estéril o un solvente estéril para inyección antes de uso.

El contenido puede variar dependiendo de la ruta de administración, de la formulación, del sitio de administración, y del tipo de excipientes o de aditivos, pero la composición farmacéutica de la presente invención contiene una clase o más clases de FK330 o sales del mismo como ingredientes activos, en una cantidad de 0.01% en peso a 100% en peso, y de acuerdo con una modalidad, en una cantidad de 0.01% en peso a 50% en peso.

Generalmente, en el caso de la administración oral, la dosis diaria de FK330 (dihidrato) es de aproximadamente 60 mg/día a 1200 mg/día, y ésta se administra una vez o de dos a tres porciones divididas. De acuerdo con otra modalidad, la dosis diaria es 60 mg a 200 mg, y de acuerdo con aún otra modalidad, la dosis diaria es 120 mg a 250 mg, 120 a 220 mg, 150 mg a 250 mg, o 180 mg a 200 mg. De acuerdo con otra modalidad, la dosis diaria es 100 mg a 180 mg, o 180 mg a 300 mg. De acuerdo con aún otra modalidad, la dosis diaria es 120 mg, 130 mg, 140 mg, 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, 190 mg, 200 mg, 210 mg, 220 mg, 230 mg, 240 mg, o 250 mg. De acuerdo con aún otra modalidad, la dosis diaria es 180 mg, 190 mg, o 200 mg. La dosificación es apropiadamente determinada de acuerdo con los casos individuales, tomando en consideración los síntomas, la edad, el género, y similares.

El agente antitumoral de la familia del taxano que se puede usar en combinación con FK330 de la presente invención puede ser una composición farmacéutica que comprende un compuesto que tiene un anillo de taxano o una estructura relacionada del mismo, como un ingrediente activo. De acuerdo con otra modalidad, el agente antitumoral de la familia del taxano puede ser una composición farmacéutica que comprende un compuesto que tiene un anillo de taxano como un ingrediente activo. Otra modalidad del agente antitumoral de la familia del taxano puede ser una composición farmacéutica que comprende un compuesto que tiene una acción inhibidora de despolimerización de microtúbulos como un ingrediente activo. Con respecto a los excipientes y a la formulación aplicada a las composiciones farmacéuticas, los descritos antes pueden usarse.

Los ejemplos específicos del agente antitumoral de la familia del taxano que pueden usarse en combinación con FK330 incluyen paclitaxel, docetaxel, carbazitaxel, abraxano, tesetaxel, ortataxel y similares, y de acuerdo con otra

modalidad, los ejemplos de los mismos incluyen paclitaxel, docetaxel, y abraxano. De acuerdo con aún otra modalidad, los ejemplos de la misma incluye paclitaxel y abraxano, y de acuerdo con aún otra modalidad, los ejemplos de la misma incluye paclitaxel, mientras que de acuerdo con otra modalidad, los ejemplos de la misma incluyen docetaxel.

Los agentes antitumorales de la familia del taxano existentes principales que se pueden usar en combinación con FK330 de la presente invención serán enumerados en la siguiente tabla, junto con los carcinomas aplicables principales o los carcinomas candidatos aplicables. Sin embargo, en la terapia de combinación de la presente invención, los carcinomas aplicables relacionados con estos agentes antitumorales no se limitan a éstos.

Tabla 1

Agente antitumoral	Carcinoma aplicable principal (candidato)
Paclitaxel	Cáncer de ovario, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de mama, cáncer gástrico (glándula gástrica), cáncer de útero
Docetaxel	Cáncer de mama, cáncer de próstata resistente a hormonas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer gástrico (glándula gástrica), cáncer de células escamosas de cabeza y de cuello, cáncer de ovario, cáncer de esófago, cáncer de útero
Carbazitaxel	Cáncer de próstata resistente a hormonas
Abraxano (paclitaxel-albúmina estabiliza, formulación de partículas de pequeño tamaño)	Cáncer de mama

Tesetaxel (en desarrollo)	Cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, melanoma, cáncer de colon
Ortataxel (en desarrollo)	Cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de células renales, cáncer de mama, linfoma de no Hodgkin

Con respecto a paclitaxel, docetaxel, carbazitaxel, o abraxano, los productos comercialmente disponibles se pueden comprar y usar, o se pueden obtener fácilmente mediante un método obvio para los expertos en la técnica, o una modificación del mismo.

El carbazitaxel se puede obtener fácilmente mediante el método de

producción descrito en el documento WO 96/30355, o una modificación del mismo. El tesetaxel se puede obtener fácilmente mediante un método obvio para los expertos en la técnica, o el método de producción descrito en el documento WO 01/27115, o una modificación del mismo. El ortataxel se puede obtener fácilmente mediante un método obvio para los expertos en la técnica, o el método de producción descrito en el Número de Patente Norteamérica 5705508, o una modificación del mismo.

Los agentes antitumorales descritos antes ya se han usado clínicamente, y la ruta de administración, el ciclo de administración, y la dosificación de los mismos se conoce claramente por los expertos en la técnica. La dosificación y la administración adecuadas pueden variar con el carcinoma, los síntomas, y el fármaco que se usará en combinación, y esta información detallada se puede obtener fácilmente a partir de varias bases de datos proporcionadas por la FDA, por ejemplo, "Orange Book" (<http://www.fda.gov/cder/orange/default.htm>), o a partir de un sitio web para proporcionar la información en productos farmacéuticos e instrumentos médicos en Japón (<http://www.info.pmda.go.jp/>). La información de varios agentes antitumorales en estas bases de datos se incorpora en la presente solicitud.

Por ejemplo, con respecto a un ejemplo de la dosificación y de la administración del paclitaxel, de acuerdo con el inserto de empaque para Taxol Injection (marca registrada; nombre comercial del paclitaxel) de un sitio web para proporcionar la información en productos farmacéuticos e instrumentos médicos en Japón, se describe cáncer ovárico "[Eficacia o efecto], cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de mama, cáncer gástrico; [Dosificación y administración]; 1. Generalmente, para un adulto, el agente en términos de paclitaxel es administrado mediante infusión intravenosa en una cantidad de 210 mg/m² una vez al día durante 3 horas, y retirado por lo menos 3 semanas. La administración es repetida al definir esto como un ciclo. Mientras tanto, la dosificación se disminuye apropiadamente dependiendo de la edad y de los síntomas".

Además, con respecto a un ejemplo de la dosificación y de la administración del docetaxel, de acuerdo con el inserto de empaque para Taxotere Injection (marca registrada: nombre comercial del docetaxel) de un sitio web para proporcionar la información en productos farmacéuticos e instrumentos médicos en Japón, se describe "1. Cáncer de mama, cáncer de

pulmón de células no pequeñas, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y de cuello; Dosificación y administración de acuerdo con la eficacia o efecto; 1. Generalmente, para un adulto, el agente en términos de docetaxel es administrado mediante infusión intravenosa en una cantidad de 60 mg/m^2 una vez al día durante 1 hora, en un intervalo de 3 a 4 semanas. Mientras tanto, la dosificación se aumenta o se disminuye apropiadamente dependiendo de los síntomas. Sin embargo, la dosis simple máxima es 70 mg/m^2 .

La dosis terapéutica eficaz en el caso de ser usada en la terapia de combinación de acuerdo con la presente invención se puede generalmente ajustar basada en la ruta de administración que se administrará, generalmente en una dosificación igual a esta en el caso donde el agente antitumoral se administre solo, o una dosificación más baja que esta (por ejemplo, 0.10 a 0.99 veces la cantidad máxima de administración en el caso de ser administrada sola). En el caso de un agente antitumoral de la familia del taxano que sea administrado por un ciclo de administración constante, el ciclo de administración se puede ajustar apropiadamente para ser apropiado para el uso combinado con FK330. La frecuencia específica de administración, dosificación, ciclo de administración, y similares son apropiadamente determinadas de acuerdo con casos individuales al tomar en consideración los síntomas, la edad, el género y similares del paciente.

La forma de administración en el caso de la administración de combinación de FK330 y de un agente antitumoral de la familia del taxano no está particularmente limitada siempre y cuando la ruta de administración, la frecuencia de administración, y la dosificación adecuada para los componentes respectivos se empleen, y los ejemplos de la forma de administración incluyen: (1) una composición que comprende FK330 y un agente antitumoral de la familia del taxano, es decir, la administración de un solo agente; (2) la administración simultánea por la misma ruta de administración, de dos preparaciones obtenibles al formular separadamente FK330 y un agente antitumoral de la familia del taxano; (3) la administración con un intervalo de tiempo por la misma ruta de administración, de dos preparaciones obtenibles al formular separadamente FK330 y un agente antitumoral de la familia del taxano (por ejemplo, la administración en orden de FK330 y el agente antitumoral de la familia del taxano, o la administración en orden inversa); (4) la administración simultánea por diferentes rutas de administración, de dos preparaciones obtenibles al formular separadamente

FK330 y un agente antitumoral de la familia del taxano; (5) la administración con un intervalo de tiempo por diferentes rutas de administración, de dos preparaciones obtenibles al formular separadamente FK330 y un agente antitumoral de la familia del taxano (por ejemplo, la administración en orden de FK330 y el agente antitumoral de la familia del taxano, o la administración en orden inversa) y similares. De acuerdo con una modalidad, la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención se formula separadamente a partir del agente antitumoral de la familia del taxano, y el agente antitumoral de la familia del taxano se administra a través de inyección intravenosa, infusión intravenosa, u oral, siempre y mientras que la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención se administra oralmente o parenteralmente. De acuerdo con otra modalidad, el agente antitumoral de la familia del taxano es administrado mediante inyección intravenosa o infusión intravenosa, mientras que la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención se administra oralmente.

Una forma preferida de administración de la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención es un método para administrar oralmente o parenteralmente la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención en por lo menos un día durante un ciclo de administración del agente antitumoral de la familia del taxano. Aquí, el término "ciclo" se entiende un ciclo de tratamiento o un curso de tratamiento basado en un cierto régimen, y por ejemplo, en el caso de paclitaxel o de docetaxel, el ciclo es un período de unidad de administración de aproximadamente 3 a 4 semanas que es desde la iniciación de la administración a la siguiente administración, con un período de eliminación entre los mismos. La forma de administración de acuerdo con cierta modalidad es un método para administrar oralmente la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención que comprende FK330 o de una sal del mismo en por lo menos uno de los días de administración del agente antitumoral de la familia del taxano; un método para administrar oralmente la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención por todos los días de los días de administración del agente antitumoral de la familia del taxano; un método para administrar oralmente la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención en por lo menos un día de los días de retiro del agente antitumoral de la familia

del taxano; un método para administrar la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención por todos los días de los días de retiro del agente antitumoral de la familia del taxano; un método para administrar oralmente la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención en por lo menos uno de los días de administración y por lo menos de un día de los días de retiro del agente antitumoral de la familia del taxano; un método para administrar oralmente la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención por todos los días de un ciclo de administración del agente antitumoral de la familia del taxano; o un método para administrar oralmente la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención intermitentemente (una vez en dos días, una de una semana, o similares) durante un ciclo de administración del agente antitumoral de la familia del taxano. La forma de administración de acuerdo con una modalidad es un método para administrar oralmente la composición para el tratamiento contra el cáncer de acuerdo con la presente invención por todos los días durante un ciclo de administración del agente antitumoral de la familia del taxano. La composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención se puede administrar varios días o un día ante la administración del agente antitumoral de la familia del taxano, y esta modalidad se incluye en la administración en un día de retiro del agente antitumoral de la familia del taxano. Cuando existe una preocupación acerca de la interacción de fármaco entre FK330 y el agente antitumoral de la familia del taxano, los horarios de administración pueden separarse para evitar la interacción, y/o la administración puede ser realizada dejando un intervalo necesario entre las mismas.

En la "composición para el tratamiento contra el cáncer para tratar un sujeto que experimenta la terapia con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, donde la composición comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo" de la presente invención, el "sujeto" se puede someter a la administración de otro agente antitumoral siempre y cuando el objeto esté experimentando la terapia con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano. Los ejemplos de otro agente antitumoral incluyen los compuestos que se describen más adelante. El "sujeto" puede ser administrado con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la

familia del taxano con la composición para el tratamiento contra el cáncer que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo, simultáneamente, separadamente, continuamente o con un intervalo.

La presente invención puede estar en la forma de "kit incluyendo (a) FK330 o una sal del mismo, y (b) uno o más agentes antitumorales seleccionaron de agentes antitumorales de la familia del taxano en la combinación". Esto incluye una preparación que comprende el ingrediente activo (a) (preparación 1) y una preparación que comprende el ingrediente activo (b) (preparación 2) en combinación para ser usado para la terapia de combinación de estos ingredientes activos. El kit de la presente invención puede ser un producto del empaque que incluye, como de desee, preparaciones adicionales o miembros deseados de indicación que faciliten la administración de acuerdo con los horarios respectivos de la administración, como un placebo.

Las dos clases de preparaciones, por ejemplo, administradas por la misma o diferentes rutas de administración, simultáneamente, separadamente, continuamente o con un intervalo, bajo las condiciones de administración como la formulación de preparación, la ruta de administración, la frecuencia de administración o similares, que son apropiadas para las preparaciones respectivas, teniendo en cuenta la biodisponibilidad, la estabilidad y similares de las preparaciones respectivas. Aquí, el término "simultáneamente" se entiende la administración de la preparación 1 y de la preparación 2 juntas por la misma ruta de administración. El término "separadamente" se entiende que la preparación 1 y la preparación 2 son administradas separadamente por la misma o diferentes rutas de administración, y en la misma o diferente frecuencia de administración o el intervalo de administración. El término "continuamente" se entiende que la preparación 1 y la preparación 2 son administradas por la misma o diferentes rutas de administración, en el orden de la preparación 1 seguida por la preparación 2, o en el orden inverso. El término "con un intervalo" se entiende que la preparación 1 y la preparación 2 son administradas por la misma o diferentes rutas de administración, en el orden de la preparación 1 seguida por la preparación 2 con cierto intervalo entre ellas, o en el orden inverso.

La presente invención puede estar en la forma de "producto farmacéutico para el tratamiento contra el cáncer, incluyendo (a) una

composición que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo, y (c) un inserto de empaque que indica el uso combinado con uno o más agente antitumoral seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano". Esto se entiende un producto farmacéutico para el tratamiento contra el cáncer que se empaqueta para incluir ambas la composición (a) que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del ingrediente activo, y el inserto de empaque (c) relacionado con la composición de (a), que indica el uso combinado con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, en el caso de usar el producto farmacéutico en terapia de combinación.

Además, cuando la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo se usa en combinación con un agente antitumoral de la familia del taxano, otro agente antitumoral que se usa en quimioterapia se puede también usar en combinación si se desea. El otro agente antitumoral que puede ser usado en combinación y se usa en quimioterapia, es un agente antitumoral conocido para ser usado en combinación con un agente antitumoral de la familia del taxano convencional, y el otro agente antitumoral puede ser, por ejemplo, uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del platino, de agentes antitumorales de la familia de antraciclina, de ciclofosfamida, de fluorouracilo, de trastuzumab, y de capecitabina. De acuerdo con una modalidad, el otro agente antitumoral es cisplatino o carboplatino, y de acuerdo con otra modalidad, el otro agente antitumoral es doxorrubicina.

Como se describe en los Ejemplos 1 a 6 de la presente especificación, se encontró que el efecto del tratamiento contra el cáncer es mejorado por la terapia de combinación de la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención que comprende FK330 o de una sal del mismo como un ingrediente activo, y un agente antitumoral de la familia del taxano. El efecto se confirmó como la terapia de combinación resultó en una disminución significativa del volumen de tumor promedio como se comparó con el caso de la administración del agente solo de la composición para el tratamiento contra el cáncer que comprende FK330 o de una sal del mismo como un ingrediente activo, o el agente antitumoral de la familia del taxano.

Además, FK330 o una sal del mismo de la presente invención no tiene efectos secundarios serios que se reporten en muchos agentes antitumorales,

y es también útil desde el punto de vista de seguridad.

En los modelos del animal descritos en los Ejemplos, se confirmó que la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención mejora el efecto antitumoral de una manera selectiva del agente antitumoral de la familia del taxano y dependiente de dosis. Es decir, en el caso de usar FK330 o una sal del mismo solamente, un efecto antitumoral significativo no se observa, y cualquier acción mejoradora de efecto antitumoral significativa no se confirma incluso si FK330 o una sal del mismo se usa en combinación con un agente antitumoral con excepción de taxano. Sin embargo, cuando FK330 o una sal del mismo se combina con un agente antitumoral de la familia del taxano, una buena acción de mejoradora de efecto antitumoral se confirma. Particularmente, se encontró que FK330 remedia la atenuación del efecto antitumoral de los fármacos de la familia del taxano causada por su tratamiento de multiciclo, y bien suprime la proliferación tumoral (ver FIG. 7). Esto sugiere que FK330 suprime la resistencia a agentes antitumorales de la familia del taxano.

En los Ejemplos 7 y 8 de la presente especificación, se describe que NO suprime directamente la acción inhibidora de despolimerización de microtúbulos de los agentes antitumorales de la familia del taxano, y que los agentes antitumorales de la familia del taxano no inducen la producción de NO junto con la expresión de las proteínas iNOS en tejidos cancerosos, mientras que FK330 suprime la actividad de iNOS.

Además, los inventores de la presente invención también encontraron que NO suprime la proliferación de células cancerosas que suprime la acción que implica la apoptosis exhibida por los agentes antitumorales de la familia del taxano, y el efecto atenuante inducido por NO de agentes quimioterapéuticos se reconoce selectivamente en agentes antitumorales de la familia del taxano.

Por lo tanto, los inventores de la presente invención aclararon el siguiente como el mecanismo de una mejora del efecto antitumoral de los agentes antitumorales de la familia del taxano exhibidos por FK330. Es decir, un agente antitumoral de la familia del taxano promueve la proteína iNOS en tejidos tumorales, y por lo tanto mejora la producción de NO. NO producido directamente suprime la acción inhibidora de despolimerización de microtúbulos del taxano, y de tal modo causa la atenuación del efecto antitumoral del agente antitumoral de la familia del taxano. Por una parte, se

ha encontrado que FK330 inhibe la producción de NO que ha sido mejorada por el agente antitumoral de la familia del taxano, y de tal modo suprime la atenuación del efecto del agente antitumoral de la familia del taxano, siempre y al tiempo que mejora el efecto antitumoral.

Como se discute antes, puede decirse que FK330 o una sal del mismo es capaz de mejorar la acción de todos los agentes antitumorales de la familia del taxano propuestos para la acción inhibidora de despolimerización de microtúbulos.

EJEMPLOS

Los resultados de la prueba farmacológica que exhiben la utilidad de la composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención se describen más adelante, pero la presente invención no se limita a estos ejemplos.

Ejemplo 1

1) Sustancias de prueba

Se usó un dihidrato de forma libre de FK3. Más adelante, la cantidad de FK3 administrada se expresa en peso del dihidrato. Una preparación inyectable del hidrato de docetaxel (Taxotere (marca registrada), para infusión intravenosa) se adquirió de Sanofi-Aventis SA, y se usó como docetaxel. Se adquirió una preparación inyectable de paclitaxel (líquido de inyección de paclitaxel "Sawai") de Sawai Pharmaceutical Co., Ltd., y se usó como paclitaxel. El clorhidrato de Irinotecan inyección (Topotesin (nombre comercial)) se adquirió de Daiichi Sankyo Co., Ltd., y se usó como irinotecan. El clorhidrato de Gemcitabina para inyección (inyección de Gemzar (nombre comercial)) se adquirió de Eli Lilly Japón K.K., y se usó como gemcitabina. El clorhidrato de doxorrubicina para inyección (Inyección 10 de Adriacina (nombre comercial)) se adquirió de Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd., y se usó como doxorrubicina. Un líquido para inyección de carboplatino (líquido para inyección de Paraplatina (nombre comercial)) se adquirió de Bristol Myers Squibb Co., y se usó como carboplatino.

2) Preparación y administración de sustancias de prueba

Se suspendió FK330 (20 mg/ml) en una solución acuosa de metilcelulosa al 0.5% (0.5% de MC). Se preparó docetaxel en el líquido de disolución unido a 4 mg/kg, y se diluyó con solución salina fisiológica (Otsuka Pharmaceutical Group) a 1 mg/ml. Se prepararon paclitaxel, irinotecan, gemcitabina, doxorrubicina, y carboplatino con solución salina fisiológica para

inyección al momento de uso a concentraciones de 1 mg/ml, 3 mg/ml, 16 mg/ml, 1 mg/ml, y 6 mg/ml, respectivamente.

3) Células

Se obtuvo Calu 6 derivada de cáncer de pulmón humano (HTB-56, por sus siglas en inglés) de American Type Culture Collection (VA, USA). Se cultivaron las células bajo condiciones a 37°C y 5% de CO₂ al usar el medio RPMI1640 que contenía 10% de suero fetal bovino vacuno inactivado por calor (FBS, por sus siglas en inglés). Se cosecharon las células con tripsina y se suspendieron en PBS a 6x10⁷ células/ml, y se mezcló la suspensión con una cantidad igual de matriz de la membrana del sótano de Matrigel (nombre comercial) Basement Membrane Matrix (fabricado por Becton Dickinson Co., Bedford, MA, USA).

4) Animales

Se adquirieron ratones sin pelo machos de cinco semanas de edad (CAnN Cg-Foxn1 nu/CrlCrlj(nu/nu)) de Charles River Laboratories Japan, Inc. (Japón, Kanagawa). Se criaron los animales bajo condiciones libres de patógenos específicos (SPF) (SPF, por sus siglas en inglés) a través del período de prueba mediante alimentación de alimento normal y agua potable. Las células cultivadas se inocularon subcutáneamente en la región dorsal de los ratones sin pelo a una concentración de 3 x 10⁶ células/0.1 ml/ratón. Los ratones sin pelo que tenían los volúmenes tumorales (eje menor x [eje mayor]² x 0.5) que oscilan de 111.9 mm³ a 369.3 mm³ se asignaron al usar SAS para minimizar la fluctuación en el volumen tumoral entre los grupos y dentro del grupo.

5) Administración y medición del fármaco

Se designó el primer día de administración como Día 1, y se hizo la observación hasta el Día 29. Se trataron los grupos respectivos (n = 5 o 6) como sigue. Se alimentó por sonda vía oral FK330 (5 ml/kg) dos veces al día en un intervalo de 6 a 8 horas, y se administró cada uno de los agentes quimioterapéuticos mediante inyección de bolo intravenoso (10 ml/kg) a través de la vena de la cola.

Grupo de control: No tratado

Grupo de administración simple de FK330: se administraron 100 mg/kg de FK330 dos veces al día (bid) (200 mg/kg/día, administrada cada día desde el inicio del experimento a la finalización)

Grupo de administración simple de Docetaxel: Docetaxel 10 mg/kg/día

(Día 1, 5 y 9)

Solo grupo de la administración de Paclitaxel: Mg/kg de Paclitaxel/día (día 1 a 7)

Grupo de administración simple de Irinotecan: Irinotecan 10 mg/kg/día (día 1 a 7)

Grupo de administración simple de Gemcitabina: Gemcitabina 160 mg/kg/día (día 1, 4 y 7)

Grupo de administración simple de Doxorubicina: Doxorubicina 10 mg/kg/día (día 1 y 8)

Grupo de administración simple de Carboplatino: Carboplatino 60 mg/kg/día (día 1 y 2)

Grupo de uso combinado:

FK330 100 mg/kg/día bid + Docetaxel mg/kg/día (Día 1, 5 and 9), n = 6
FK330 100 mg/kg/día bid + Paclitaxel mg/kg/día (Día 1 al 7), n = 6

FK330 100 mg/kg/día bid + Irinotecan 30 mg/kg/día (Día 1 al 7), n = 6

FK330 100 mg/kg/día bid + Gemcitabina 160 mg/kg/día (Día 1, 4 and 7), n = 6

FK330 100 mg/kg/día bid + Doxorubicina mg/kg/día (Día 1 and 8), n = 6

FK330 100 mg/kg/día bid + Carboplatino 60 mg/kg/día (Día 1 and 2), n = 5

FK330 se alimentó por sonda vía oral (5 ml/kg) dos veces al día en un intervalo de 6 a 8 horas.

Se administró cada uno de los agentes quimioterapéuticos mediante inyección de bolo intravenoso (10 ml/kg) a través de la vena de la cola 2 a 4 horas después de la administración de FK330.

Cada 3 a 4 días, se midieron el peso corporal y el diámetro del tumor, determinados al usar un calibrador digital. Se calculó el volumen tumoral a partir de la fórmula de cálculo para el volumen elipsoide (eje menor x [eje mayor]² x 0.52).

6) Análisis estadístico

Se expresan los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) ± error estándar (SEM, por sus siglas en inglés). Durante el período de prueba, se definió un valor menor que o igual al límite de palpación como la remisión completa (CR, por sus siglas en inglés), y se designó el valor de medición como 0. Al usar los valores medidos actuales del volumen tumoral al final del estudio, se realizó una prueba estadística

dispareja (prueba t de Student) de la diferencia entre dos grupos entre un grupo de administración simple y un grupo de uso combinado. Un valor de diferencia de menos del 5% se consideró ser estadísticamente significativo. Para el procesamiento de datos, se usó SAS o Graphpad Prism versión 5.03.

7) Resultados

Se investigó el efecto antitumoral de administración combinada de FK330 y de varios agentes quimioterapéuticos. Los resultados se muestran en la FIG. 1 a FIG. 6. Es decir, el efecto de uso combinado de FK330 y de doxorubicina se muestra en la FIG. 1; el efecto de uso combinado con gemcitabina se muestra en la FIG. 2; el efecto de uso combinado con irinotecan se muestra en la FIG. 3; el efecto de uso combinado con carboplatino se muestra en la FIG. 4; el efecto de uso combinado con paclitaxel se muestra en la FIG. 5; y el efecto de uso combinado con docetaxel se muestran en la FIG. 6. No se reconoció un efecto antitumoral cuando FK330 se usó solo, pero se reconoció una mejora significativa del efecto antitumoral en paclitaxel (relación de reducción del volumen tumoral comparado con grupo del único paclitaxel el Día 29: 57.6%) y docetaxel (relación de reducción de volumen tumoral comparado con el grupo del único docetaxel el Día 29: 65.2%). Por una parte, FK330 no afectó al efecto antitumoral de la gemcitabina y del carboplatino. Se observó una ligera mejora del efecto antitumoral en la doxorubicina (relación de reducción de volumen tumoral comparado con el grupo del único doxorubicina el Día 29: 34.5%) e irinotecan (relación de reducción de volumen tumoral comparado con grupo del único irinotecan día 29: 34.1%), pero los efectos no fueron significativos.

Se expresan los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) $\pm$ error estándar (SEM, por sus siglas en inglés) ($n = 6$). *: $P < 0.03$ y **: $P < 0.01$ representa las diferencias significativas obtenidas como las comparadas entre los grupos de uso combinado y los grupos de administración simple del agente quimioterapéutico. N.S.: representa que no había diferencia significativa como la comparada entre los grupos de uso combinado y los solos grupos de administración simple del agente quimioterapéutico (prueba t de Student).

8) Conclusiones

FK330 por sí mismo no se encontró que tiene un efecto antitumoral, pero mejoró el efecto antitumoral del paclitaxel y del docetaxel. Por una

parte, FK330 no afectó al efecto antitumoral de irinotecan, de gemcitabina, de doxorubicina y de carboplatino. Estos resultados sugieren que FK330 mejora selectivamente el efecto antitumoral de los agentes antitumorales de la familia del taxano.

Ejemplo 2

1) Sustancias de prueba

Se expresó la dosis de FK330 en peso que incluye el hidrato. Una preparación inyectable de paclitaxel (líquido de inyección de paclitaxel, "Sawai") se adquirió de Sawai Pharmaceutical Co., Ltd., y se usó como paclitaxel.

2) Preparación y administración de sustancias de prueba

Se suspendió FK330 (20 mg/ml) en una solución acuosa de metilcelulosa al 0.5% (0.5% de MC). Se preparó paclitaxel con solución salina fisiológica para inyección (Otsuka Pharmaceutical Group) a una concentración de 1 mg/ml al momento de uso.

3) Células

Se obtuvo Calu 6 derivada de cáncer pulmón humano (HTB-56, por sus siglas en inglés) a partir de la American Type Culture Collection (VA, USA). Se cultivaron las células bajo condiciones a 37°C y 5% de CO₂ al usar el medio RPMI1640 que contenía 10% suero bovino fetal inactivado por calor. Se cosecharon las células con tripsina y se suspendieron en PBS a 6×10^7 células/ml, y se mezcló la suspensión con una cantidad igual de Matrigel (nombre comercial) Basement Membrane Matrix (fabricado por Becton Dickinson Co., Bedford, MA, USA).

4) Animales

Se adquirieron ratones sin pelo machos de cinco semanas de edad (CAnN Cg-Foxn1nu/CrlCrlj(nu/nu)) de Charles River Laboratories Japan, Inc. (Japón, Kanagawa). Se criaron los animales bajo condiciones libres de patógenos específicos (SPF, por sus siglas en inglés) a través del período de prueba mediante alimentación de alimento normal y agua potable. Las células cultivadas estaban se inoculaban subcutáneamente en la región dorsal de los ratones sin pelo a una concentración de 3×10^6 células/0.1 ml/ratón. Se asignaron los ratones sin pelo que tenían los volúmenes tumorales (eje menor x [eje mayor]² x 0.5) que oscilan de 126.1 mm³ a 299.0 mm³ al usar SAS para minimizar la fluctuación en el volumen tumoral entre los grupos y dentro del grupo.

5) Administración y medición del fármaco

Se designó el primer día de administración como el Día 1, y se hizo la observación hasta el Día 83. Se trataron los grupos respectivos ($n = 6$) como sigue. Se alimentó por sonda vía oral FK330 en una cantidad de 5 ml/kg, y se administró intravenosamente paclitaxel a través de la vena de la cola en una cantidad de 10 ml/kg. Se administró paclitaxel continuamente del Día 1 al Día 7, y después se retiró durante 24 días (1 ciclo). En la administración de PTX en el segundo ciclo y el tercer ciclo, se administró PTX continuamente durante 6 días a partir del Día 31 y a partir del día 60, respectivamente.

Grupo de control: No tratado

Grupo de administración simple de FK330: FK330 100 mg/kg de bid (200 mg/kg/día, administrado continuamente a partir de la iniciación del experimento a la terminación del experimento)

Grupo de administración simple de Paclitaxel: Paclitaxel mg/kg/día (administrado continuamente durante 7 días en el ciclo 1, y administrado continuamente durante 6 días en el Ciclo 2 y el ciclo subsecuente)

Grupo de uso combinado:

FK330 100 mg/kg/kg de bid (200 mg/kg/día, administrado continuamente a partir de la iniciación del experimento a la terminación del experimento) + paclitaxel mg/kg/día (administrado continuamente durante 7 días en el Ciclo 1, y administrado continuamente durante 6 días en el Ciclo 2 y el ciclo subsecuente)

Se alimentó por sonda vía oral FK330 (5 ml/kg) dos veces al día en un intervalo de 6 a 8 horas. Se administró paclitaxel mediante inyección de bolo intravenoso (10 ml/kg) a través de la vena de la cola 2 a 4 horas después de la administración de FK330.

Cada 3 a 4 días, se midieron el peso corporal y los diámetros de tumor, se determinaron al usar un calibrador digital. Se calculó el volumen tumoral a partir de la fórmula de cálculo para el volumen del elipsoide (eje menor $\times$ [eje mayor]² $\times$ 0.52).

6) Análisis estadístico

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés). Durante el período de prueba, se definió un valor menor o igual al límite de palpación como la remisión completa (CR, por sus siglas en inglés), y se designó el valor de medición como 0. Al usar los valores medidos actuales del volumen

tumoral al final del estudio, se realizó una prueba estadística dispereja (prueba t de Student) de la diferencia entre dos grupos entre un Grupo de administración simple y un grupo de uso combinado. Un valor de diferencia de menos del 5% se consideró ser estadísticamente significativo. Para el procesamiento de datos, se usó SAS.

7) Resultados

Se investigó la acción de uso combinado de FK330 al momento del tratamiento de multiciclo del paclitaxel. Los resultados se muestran en la FIG. 7. En ratones portadores de tumor del cáncer de pulmón humano de células no pequeñas (Calu-6, por sus siglas en inglés), fue encontrado que el efecto antitumoral del paclitaxel tendió a atenuar como un resultado de la administración de multiciclo. FK330 mejoró el efecto antitumoral del paclitaxel muy claramente, y la relación de reducción del volumen tumoral comparado con grupo del único paclitaxel el Día 29 fue 57.6% ($P < 0.01$), la relación de reducción del volumen tumoral comparada con el grupo del único paclitaxel el Día 60 fue 86.1% ($P < 0.01$), mientras que la relación de reducción del volumen tumoral comparada con el grupo del único paclitaxel el Día 83 fue 87.6% ($P < 0.01$).

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés) ($n = 6$). **: $P < 0.01$ representa la diferencia significativa obtenida como se comparó entre el grupo de uso combinado y el Grupo de administración simple del agente quimioterapéutico (prueba t de Student).

8) Conclusiones

En ratones portadores de tumor del cáncer de pulmón humano de células no pequeñas (Calu-6, por sus siglas en inglés), el efecto antitumoral del paclitaxel atenuado de una manera dependiente de ciclo. Por una parte, el uso combinado de FK330 mejoró el efecto antitumoral del paclitaxel bajo la administración de multiciclo, y suprimió muy claramente el crecimiento repetido de tumores. Estos resultados sugieren que FK330 remedia la atenuación del efecto antitumoral de un fármaco de la familia del taxano a través del tratamiento de multiciclo.

Ejemplo 3

Se realizaron la preparación de las sustancias de prueba y el condicionamiento de las células de la misma manera como en el Ejemplo 2.

1) Animales

Se adquirieron ratones sin pelo machos de cinco semanas de edad (CAnN Cg-Foxn1nu/CrlCrlj(nu/nu)) de Charles River Laboratories Japan, Inc. (Japón, Kanagawa). Se criaron los animales bajo condiciones libres de patógenos específicos (SPF, por sus siglas en inglés) a través del período de prueba mediante alimentación de alimento normal y agua potable. Las células cultivadas se inocularon subcutáneamente en la región dorsal de los ratones sin pelo a una concentración de 3×10^6 células/0.1 ml/ratón. Se asignaron los ratones sin pelo que tenían los volúmenes tumorales (eje menor $\times$ [eje mayor]² $\times$ 0.5) que oscilan de 123.3 mm³ a 274.4 mm³ al usar SAS para minimizar la fluctuación en el volumen tumoral entre los grupos y dentro del grupo.

2) Administración y medición del fármaco

Se designó el primer día de administración como Día 0, y se hizo la observación hasta el día 59. Se trataron los grupos respectivos (n = 5) como sigue. Se alimentó por sonda vía oral FK330 en una cantidad de 5 ml/kg, y se administró intravenosamente paclitaxel a través de la vena de la cola en una cantidad de 10 ml/kg. Se administró paclitaxel continuamente el Día 0 al Día 5, y después se retiró durante 21 días. Esto se definió como un ciclo, y se realizó la administración hasta dos ciclos.

Grupo de control: No tratado

Grupo de administración simple de Paclitaxel: Paclitaxel mg/kg/día (administrado continuamente durante seis días a partir del día 0 en el ciclo 1, y administrado continuamente durante 6 días a partir del día 27 en el ciclo 2)

Grupo de uso combinado:

FK330 30 mg/kg de bid (60 mg/kg/día) + paclitaxel mg/kg/día (continuamente administrado durante 6 días a partir del Día 0 en el ciclo 1, y administrado continuamente durante 6 días a partir del Día 27 en el ciclo 2)

FK330 60 mg/kg de bid (120 mg/kg/día) paclitaxel + mg/kg/día (administrado continuamente durante 6 días a partir del Día 0 en el ciclo 1, y administrado continuamente durante 6 días 10 a partir del Día 27 en el ciclo 2)

FK330 100 mg/kg de bid (200 mg/kg/día) paclitaxel + mg/kg/día (administrado continuamente durante 6 días a partir del Día 0 en el ciclo 1, y administrado continuamente durante 6 días a partir del Día 27 en el ciclo 2)

Se alimentó por sonda vía oral FK330 (5 ml/kg) dos veces al día en un intervalo de 6 a 8 horas.

Se administró paclitaxel mediante inyección de bolo intravenoso (10

ml/kg) a través de la vena de la cola 2 a 4 horas después de la administración de FK330.

Cada 3 a 4 días, se midieron el peso corporal y los diámetros del tumor, determinados al usar un calibrador digital. Se calculó el volumen tumoral de la fórmula de cálculo para el volumen de un elipsoide (eje menor x [eje mayor]² x 0.52).

3) Resultados

Los resultados de investigar la dependencia de dosis de FK330 en el efecto de mejora sobre el efecto antitumoral del paclitaxel se muestran en la FIG. 8. Se expresaron los resultados como el valor promedio (MEAN, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés) (n = 4 a 5). El volumen tumoral al final del estudio (día 59) fue $1640.1 \pm 902.8 \text{ mm}^3$ en el grupo del único paclitaxel; $955.9 \pm 231.0 \text{ mm}^3$ en el FK330 30 mg/kg de grupo de uso combinado de bid; $706.2 \pm 256.1 \text{ mm}^3$ en el FK330 60 mg/kg de grupo de uso combinado de bid; y $297.9 \pm 101.4 \text{ mm}^3$ en el FK330 100 mg/kg de grupo de uso combinado de bid, y FK330 mejoró el efecto antitumoral del paclitaxel de una manera dependiente de dosis (relación de reducción del volumen tumoral comparado con el grupo del único paclitaxel: 41.7% en FK330 30 mg/kg de bid; 56.9% en FK330 60 mg/kg de bid, y 81.8% en FK330 100 mg/kg de bid).

4) Conclusiones

El uso combinado de FK330 mejoró el efecto antitumoral del paclitaxel de una manera dependiente de dosis.

Ejemplo 4

Se realizaron la preparación de las sustancias de prueba y el condicionamiento de las células de manera similar como en el Ejemplo 2.

1) Animales

Se adquirieron ratones sin pelo machos de cinco semanas de edad (CAnN Cg-Foxn1nu/CrlCrlj(nu/nu)) de Charles River Laboratories Japan, Inc. (Japón, Kanagawa). Se criaron los animales bajo condiciones libres de patógenos específicos (SPF) (SPF, por sus siglas en inglés) a través del período de prueba mediante alimentación de alimento normal y agua potable. Las células cultivadas se inocularon subcutáneamente en la región dorsal de los ratones sin pelo a una concentración de 3×10^6 células/0.1 ml/ratón. Los ratones sin pelo que tenían los volúmenes tumorales (eje menor x [eje mayor]² x 0.5) que oscilan de 142.1 mm^3 a 323.7 mm^3 se asignaron al usar

SAS para minimizar la fluctuación en el volumen tumoral entre los grupos y dentro del grupo.

2) Administración y medición del fármaco

Se designó el primer día de administración como Día 0, y se hizo la observación hasta el día 55. Se trataron los grupos respectivos ($n = 5$ o 6) como sigue. Se alimentó por sonda vía oral FK330 en una cantidad de 5 ml/kg, y se administró intravenosamente paclitaxel a través de la vena de la cola en una cantidad de 10 ml/kg. Se administró paclitaxel continuamente el Día 0 al Día 5, se retiró posteriormente durante 21 días, y después de administró continuamente durante 5 días a partir del Día 27 al día 31.

Grupo de control: No tratado

Grupo de administración simple de Paclitaxel: Paclitaxel mg/kg/día (Día 0 a Día 5, y Día 27 a Día 31)

Grupo de uso combinado:

Administración concomitante, FK330 100 mg/kg de bid (200 mg/kg/día) paclitaxel + mg/kg/día (Día 0 a Día 5, y Día 27 a Día 31)

Administración secuencial, FK330 100 mg/kg de bid (200 mg/kg/día) + paclitaxel 10 mg/kg/día (Día 0 a Día 5, y Día 27 a Día 31)

Administración continua, FK330 100 mg/kg de bid (200 mg/kg/día) + paclitaxel 10 mg/kg/día (del Día 0 al Día 5, y del Día 27 al Día 31)

Se alimentó por sonda vía oral FK330 (5 ml/kg) dos veces al día en un intervalo de 6 a 8 horas.

En la administración concomitante, FK330 se administró en los días de administración del paclitaxel (del Día 0 al Día 5, y del Día 27 al Día 31); y en la administración continua, FK330 se administró en los días de retiro después de los días de la administración del paclitaxel (del Día 6 al Día 26, y del Día 32 al Día 55), mientras que se realizó la administración continua por todos los días a partir del día de iniciación del experimento al día de terminación del experimento. Se administró paclitaxel mediante inyección de bolo intravenoso (10 ml/kg) a través de la vena de la cola 2 a 4 horas después de la administración de FK330.

Cada 3 a 4 días, se midieron el peso corporal y los diámetros del tumor, determinados al usar un calibrador digital. Se calculó el volumen tumoral de la fórmula de cálculo para el volumen de un elipsoide ($\text{eje menor} \times [\text{eje mayor}]^2 \times 0.52$).

3) Resultados

En ratones portadores de tumor del cáncer de pulmón humano de células no pequeñas (Calu-6, por sus siglas en inglés), los resultados de investigar la duración de la administración de FK330 en el uso combinado con el paclitaxel se muestran en la FIG. 9. Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés) ($n = 5$ o 6).

Durante el período de prueba, se definió un valor menor que o igual al límite de palpación como la remisión completa (CR, por sus siglas en inglés), y se designó el valor de medición como 0. El volumen tumoral al final del estudio (Día 55) fue $1229.2 \pm 289.6 \text{ mm}^3$ en el grupo del único paclitaxel; $559.8 \pm 161.8 \text{ mm}^3$ en la administración concomitante del paclitaxel y del FK330; $1150.9 \pm 264.9 \text{ mm}^3$ en la administración secuencial de FK330; y $168.5 \pm 66.0 \text{ mm}^3$ en la administración continua de FK330, y la relación de reducción del volumen tumoral comparada con el grupo del único paclitaxel fue 54.5%, 6.4%, y 86.3%, respectivamente.

4) Conclusiones

En vista de la duración de la administración de FK330, se sugirió que el efecto de uso combinado fue el más alto cuando FK330 se administró por días consecutivos durante el período de ciclo a partir del día de iniciación de la administración de un fármaco de la familia del taxano.

Ejemplo 5

Se realizó la preparación de las sustancias de prueba de manera similar como en el Ejemplo 2.

1) Células

Se obtuvo NCI-N87 (CRL-5822) derivada de cáncer gástrico humano de American Type Culture Collection (VA, USA), se obtuvo MKN-28 (JCRB0253) de Health Science Research Resources Bank (HSRRB), y se obtuvo AZ-521 (RCB2087) de Riken BRC. Se cultivaron las células NCI-N87 y MKN-28 bajo condiciones a 37°C y 5% de CO_2 al usar el medio RPMI1640 que contenía 10% de suero bovino fetal inactivado por calor (FBS, por sus siglas en inglés), y se cultivaron células AZ-521 bajo condiciones a 37°C y 5% de CO_2 al usar el medio DMEM que contenía 10% de FBS inactivado por calor. Se cosecharon las células con tripsina y se suspendieron en PBS a 6×10^7 células/ml, y se mezcló la suspensión con una cantidad igual de Matrigel (nombre comercial) Basement Membrane Matrix (nombre comercial) (fabricado por Becton Dickinson Co., Bedford, MA, USA).

2) Animales

Se adquirieron ratones sin pelo machos de cinco semanas de edad (CAnN Cg-Foxn1nu/CrlCrlj(nu/nu)) de Charles River Laboratories Japan, Inc. (Japón, Kanagawa). Se criaron los animales bajo condiciones libres de patógenos específicos (SPF, por sus siglas en inglés) a través del período de prueba mediante alimentación de alimento normal y agua potable. Las células cultivadas se inocularon subcutáneamente en la región dorsal de los ratones sin pelo a una concentración de 3×10^6 células/0.1 ml/ratón. Los ratones sin pelo que tenían los volúmenes tumorales (eje menor $\times$ [eje mayor]² $\times$ 0.5) que oscilan de 386.6 mm³ a 766.6 mm³ en el caso de ratones portadores de tumor de AZ-521; el volumen tumoral que oscila de 186.0 mm³ a 319.2 mm³ en el caso de ratones portadores de tumor de MKN-28; y el volumen tumoral que oscila de 192.1 mm³ a 364.2 mm³ en el caso de ratones portadores de tumor NCI-N87, se asignaron al usar SAS para minimizar la fluctuación en el volumen tumoral entre los grupos y dentro del grupo.

3) Administración y medición del fármaco

Se designó el primer día de administración como Día 0, y se hizo la observación hasta el Día 46 en los ratones portadores de tumor de AZ-521, hasta el Día 84 en los ratones portadores de tumor de MKN-28, y hasta el Día 56 en los ratones portadores de tumor NCI-N87. Se trataron los grupos respectivos (n = 5 o 6) como sigue. Se alimentó por sonda vía oral FK330 en una cantidad de 5 ml/kg, y se administró intravenosamente paclitaxel a través de la vena de la cola en una cantidad de 10 ml/kg. Se administró paclitaxel bajo las siguientes condiciones de tratamiento de multicitos.

Grupo de control: No tratado

Grupo de administración simple de FK330: FK330 100 mg/kg de bid (200 mg/kg día, administrados continuamente a partir de la iniciación del experimento a la terminación del experimento)

Grupo de administración de Paclitaxel solo: Paclitaxel 10 mg/kg día

Ratones portadores de tumor de AZ-521:

Se administró paclitaxel continuamente durante 6 días a partir del Día 0 al Día 5, se tomó un período del retiro de fármaco de 22 días (Ciclo 1), y el paclitaxel se administró continuamente durante 5 días a partir del Día 28 al Día 32 (Ciclo 2).

Ratones portadores de tumor de MKN-28:

Se administró paclitaxel continuamente durante 6 días a partir del Día 0

al Día 5, posteriormente, se tomó un período de retiro de fármaco de 22 días, posteriormente se administró paclitaxel continuamente durante 5 días a partir del Día 28 al día 32, y se tomó un retiro de fármaco de 23 días (Ciclo 2). Además, se realizó la administración continua durante 5 días a partir del Día 56 al día 60 (Ciclo 3).

Ratones portadores de tumor de NCI-N87:

Se administró paclitaxel continuamente durante 6 días a partir del Día 0 al Día 5, se tomó un período de retiro de fármaco de 26 días posteriormente, y entonces se administró paclitaxel continuamente durante 5 días a partir del Día 32 al Día 36 (Ciclo 2).

Grupo de uso combinado:

FK330 100 mg/kg de bid (200 mg/kg día, administrados continuamente a partir de la iniciación del experimento a la terminación del experimento) + paclitaxel 10 mg/kg/día

Se alimentó por sonda vía oral FK330 (5 ml/kg) dos veces al día en un intervalo de 6 a 8 horas. Se administró paclitaxel mediante inyección de bolo intravenoso (10 ml/kg) a través de la vena de la cola 2 a 4 horas después de la administración de FK330.

Cada 3 a 4 días, se midieron el peso corporal y los diámetros del tumor, determinados al usar 5 calibrador digital. Se calculó el volumen tumoral de la fórmula de cálculo para el volumen de un elipsoide (eje menor x [eje mayor]² x 0.52).

4) Análisis estadístico

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés).

Al usar los valores promedio actuales del volumen tumoral en cada punto de tiempo de medición, se realizó una prueba estadística dispareja (prueba t de Student) de la diferencia entre dos grupos entre un grupo de administración simple y un grupo de uso combinado. Se consideró un valor de diferencia de menos del 5% ser estadísticamente significativo. Para el procesamiento de datos, se usó Graphpad Prism versión 5.03.

5) Resultados

En ratones portadores de tumor del cáncer gástrico humano (AZ-521, MNK-28, y NCI-N87), los resultados de investigar el efecto de FK330 del uso combinado con paclitaxel se muestran en la FIG. 10 a FIG. 12. Es decir, el efecto de uso combinado de FK330 y de paclitaxel en ratones portadores de

tumor de AZ-521 se muestra en la FIG. 10; el efecto de uso combinado en ratones portadores de tumor de MKN-28 se muestra en la FIG. 11; y el efecto de uso combinado en ratones portadores de tumor NCI-N87 se muestra en la FIG. 12. Similarmente al caso de ratones portadores de tumor del cáncer de pulmón humano de células no pequeñas, FK330 mejoró el efecto antitumoral del paclitaxel. En los ratones portadores de tumor de AZ-521, el volumen tumoral grupo del único paclitaxel en el último día de experimento fue $3285.4 \pm 359.4 \text{ mm}^3$, y el volumen tumoral del grupo de uso combinado de paclitaxel y de FK330 fue $795.0 \pm 223.3 \text{ mm}^3$. Así, el volumen tumoral disminuyó por 75.8% ($P < 0.01$) comparado con el grupo del único paclitaxel. También en ratones portadores de tumor de MKN-28 y de NCI-N87, FK330 mejoró el efecto antitumoral del paclitaxel (ratones portadores de tumor de MKN-28: $454.1 \pm 147.5 \text{ mm}^3$ contra $164.8 \pm 18.5 \text{ mm}^3$, disminución por 63.7%, $P = 0.08$, ratones portadores de tumor NCI-N87: $492.0 \pm 48.5 \text{ mm}^3$ contra $223.9 \pm 85.1 \text{ mm}^3$, disminución por 54.5%, $P < 0.03$).

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés) ($n = 5$ o 6). El valor P representa la diferencia significativa obtenida como se comparó entre un grupo de uso combinado y un grupo de administración simple del agente quimioterapéutico (prueba t de Student).

6) Conclusiones

El uso combinado de FK330 mejoró el efecto antitumoral del paclitaxel en un modelo portador de tumor del cáncer gástrico humano, y particularmente, se reconoció un efecto de remediar la atenuación del efecto antitumoral del paclitaxel a través del tratamiento de multiciclo.

Ejemplo 6

1) Sustancias de prueba

La dosis de FK330 se expresó en términos de peso de una sustancia simple (distinto a hidrato). Se adquirió el paclitaxel de LC Laboratories, Inc. (Woburn, MA, USA), y se usó como paclitaxel.

2) Preparación y administración de sustancias de prueba

Se suspendió FK330 (20 mg/ml) en una solución acuosa de metilcelulosa al 0.5% (0.5% de MC), y se administró oralmente. Se preparó paclitaxel en una solución madre a 10 mg/ml con una solución de etanol/cromóforo (mezclada a 1:1), y entonces se diluyó la solución madre a 1 mg/ml con solución salina fisiológica para la inyección (Otsuka

Pharmaceutical Group) inmediatamente antes de la administración y se administró intravenosamente a través de la vena de la cola.

3) Células

Se obtuvo el MDA-MB-231 derivado de cáncer de mama humano (HTB-26, por sus siglas en inglés) de American Type Culture Collection (VA, USA). Se cultivaron las células bajo condiciones a 37°C y 5% de CO₂ al usar el medio de DMEM que contenía 10% suero bovino fetal inactivado por calor (FBS, por sus siglas en inglés). Se cosecharon las células con tripsina y se suspendieron en PBS a 6×10^7 células/ml, y se mezcló la suspensión con una cantidad igual de Matrigel (nombre comercial) Basement Membrane Matrix (nombre comercial) (fabricado por Becton Dickinson Co., Bedford, MA, USA).

4) Animales

Se adquirieron ratones sin pelo hembra de cinco semanas de edad (CAnN Cg-Foxn1nu/CrlCrlj(nu/nu)) de Charles River Laboratories Japan, Inc. (Japón, Kanagawa). Se criaron los animales bajo condiciones libres de patógenos específicos (SPF, por sus siglas en inglés) a través del período de prueba mediante alimentación de alimento normal y agua potable. Se inocularon las células cultivadas subcutáneamente en la región dorsal de los ratones sin pelo a una concentración de 3×10^6 células/0.1 ml/ratón. Se asignaron los ratones sin pelo que tenían los volúmenes tumorales (eje menor x [eje mayor]² x 0.5) que oscilan de 148.7 mm³ a 312.5 mm³ al usar SAS para minimizar la fluctuación en el volumen tumoral entre los grupos y dentro del grupo.

5) Administración y medición de fármaco

Se designó el primer día de administración como Día 1, y se hizo la observación hasta el Día 66. Se trataron los grupos respectivos (n = 6) como sigue. Se alimentó por sonda vía oral FK330 en una cantidad de 5 ml/kg, y se administró intravenosamente paclitaxel a través de la vena de la cola en una cantidad de 10 ml/kg. Se administró paclitaxel continuamente durante 4 días a partir del Día 1 al día 4, y entonces se retiró mediante 25 días (Ciclo 1). En la administración de PTX en el Ciclo 2, se administró el fármaco continuamente durante 4 días a partir del Día 30.

Grupo de control: no tratado

Grupo de administración simple de FK330: FK330 100 mg/kg de bid (día de 200 mg/kg, administrado continuamente a partir de la iniciación del experimento a la terminación del experimento)

Grupo de administración simple de Paclitaxel: Paclitaxel 10 mg/kg/día (administrado continuamente durante 4 días en cada ciclo)

Grupo de uso combinado:

FK330 100 mg/kg/kg de bid (200 mg/kg día, administrados continuamente a partir de la iniciación del experimento a la terminación del experimento) + paclitaxel 10 mg/kg día (administrado continuamente durante 4 días en cada ciclo)

Se alimentó por sonda vía oral FK330 (5 ml/kg) dos veces al día durante 6 a 8 horas. Se administró paclitaxel mediante inyección de bolo intravenoso (10 ml/kg) a través de la vena de la cola 1 a 4 horas después de la administración de FK330.

Se midieron el peso corporal y el diámetro del tumor, determinados al usar un calibrador digital, dos veces por semana. Se calculó el volumen tumoral de la fórmula de cálculo para el volumen del elipsoide (eje menor x [eje mayor]² x 0.52).

6) Análisis estadístico

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés). Durante el período de prueba, se definió un valor menor o igual al límite de palpación como remisión completa (CR, por sus siglas en inglés), y se designó el valor de medición como 0. Al usar los valores medidos actuales del volumen tumoral en los puntos de tiempo de medición, se realizó una prueba estadística dispareja (prueba t de Student) de la diferencia entre dos grupos entre un grupo de administración simple y un grupo de uso combinado. Se consideró un valor de diferencia de menos del 5% ser estadísticamente significativo. Para el procesamiento de datos, se usó Graphpad Prism versión 5.03.

7) Resultados

Los resultados de investigar el efecto de uso combinado de FK330 con el paclitaxel en ratones humanos portadores de tumor del cáncer de mama se muestran en la FIG. 13. En ratones portadores de tumor del cáncer de mama humano (MDA-MB-231), FK330 mejoró claramente el efecto antitumoral del paclitaxel, y la relación de reducción del volumen tumoral comparada con el grupo del único paclitaxel el Día 28 fue 59.6% ($P < 0.01$), y la relación de reducción del volumen tumoral comparada con el grupo del único paclitaxel el Día 66 fue 82.8% ($P < 0.01$).

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés) (n = 6) **: $P < 0.01$ representa la diferencia significativa obtenida como se comparó entre el grupo de uso combinado y el grupo de administración simple del paclitaxel (prueba t de Student).

8) Conclusiones

El uso combinado de FK330 mejoró el efecto antitumoral del paclitaxel bajo su administración de multiciclo en ratones portadores de tumor del cáncer de mama humano (MDA-MB-231), y suprimió muy claramente el nuevo crecimiento del tumor.

Ejemplo 7

1) Sustancias de prueba

Se adquirió S-nitroso-N-acetil-D,L-penicilamina (SNAP, por sus siglas en inglés), que es un donante de NO, de Cayman Chemical Co. (Ann Arbor, MI, USA) y se usó. Se adquirió un kit de análisis de polimerización de tubulina de Cytoskeleton, Inc. (Denver, CO, USA) y se usó. Para el paclitaxel, se usó un paclitaxel incluido en el kit de análisis como paclitaxel. Se adquirió el docetaxel de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA) y se usó como docetaxel.

2) Método de prueba

Se realizó un análisis basado en fluorescencia de la reacción de polimerización de tubulina de acuerdo con la instrucción del fabricante del kit. Es decir, se incubaron la tubulina derivada del cerebro de cerdo purificado (concentración final: 2 mg/ml) y SNAP (concentración final: 200 o 500 $\mu\text{mol/l}$) a temperatura ambiente durante 15 minutos o más en la solución de amortiguador incluida en el kit. Posteriormente, se agregaron paclitaxel (concentración final: 3 pmol/l) o docetaxel (concentración final: 1 $\mu\text{mol/l}$), y GPT (concentración final: 1 mmol/l) a esta mezcla de almacenador, y después se incubaron durante 60 minutos a 37°C. Durante esta incubación, se midió la intensidad de fluorescencia (longitud de onda de medición: excitación 350 nm/fluorescencia 435 nm) cada minuto mediante el uso de un lector de microplacas (Spectramax, Molecular Devices, LLC, Sunnyvale, CA, USA). Se expresó el valor de intensidad de fluorescencia como un porcentaje con relación al SNAP y el grupo no tratado de taxano al usar el valor obtuvo 60 minutos después de la iniciación de la reacción, que correspondió a la fase de estado estacionario de equilibrio, y se tomó el valor promedio para tres

experimentos como el valor.

3) Análisis estadístico

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés) de cinco experimentos independientes. Se realizó una comparación entre un grupo tratado con paclitaxel o con docetaxel y un grupo no tratado mediante una prueba estadística dispareja (prueba t de Student) de la diferencia entre dos grupos. Se realizó una comparación entre un grupo no tratado con SNAP (grupo de control) y los grupos tratados con SNAP (200 $\mu\text{mol/l}$ y 500 $\mu\text{mol/l}$) en presencia o ausencia de los fármacos de la familia del taxano mediante la prueba de comparación múltiple de Dunnett. Se consideró un valor de diferencia de menos del 5% ser estadísticamente significativo. Para el procesamiento de datos, se usó Graphpad Prism versión 5.03.

4) Resultados

Un ejemplo representativo de la acción represiva de SNAP en la acción de polimerización de tubulina inducida por paclitaxel, y los valores de resumen durante 60 minutos después de la iniciación de la polimerización de tubulina, se muestran en la FIG. 14(A) y la FIG. 14(B). Un ejemplo representativo de la acción represiva de SNAP en la acción de polimerización de tubulina inducida por docetaxel, y los valores de resumen durante 60 minutos después de la iniciación de la polimerización de tubulina, se muestran en la FIG. 15(A) y la FIG. 15(B). El paclitaxel o el docetaxel promovió significativamente la polimerización de tubulina a 152.7% ($P < 0.05$) y 184.1% ($P < 0.001$), respectivamente, en comparación con los grupos no tratados con taxano respectivos. SNAP como un donante de NO suprimió significativamente la reacción de polimerización de tubulina promovida por paclitaxel y docetaxel. Además, SNAP también significativamente suprimido la reacción de polimerización de tubulina espontánea.

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés) ($n = 5$). #: $P < 0.05$ y ###: $P < 0.001$ representa las diferencias significativas obtenidas como se comparó entre el grupo tratado con paclitaxel o con docetaxel y el grupo no tratado con fármaco de taxano correspondiente (prueba t de Student). \$: $P < 0.05$ y \$\$\$: $P < 0.001$ representa las diferencias significativas del grupo tratado con SNAP en comparación con el grupo no tratado con SNAP (grupo de control) en ausencia de taxanos (prueba de comparación

múltiple de Dunnett). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, y ***: $P < 0.001$ representa las diferencias significativas del grupo tratado con SNAP en comparación con el grupo no tratado con SNAP (grupo de control) en presencia de taxanos (prueba de comparación múltiple de Dunnett).

5) Conclusiones

El donante de NO suprimió directamente la reacción de polimerización de tubulina promovida por el paclitaxel y el docetaxel.

Ejemplo 8

1) Sustancias de prueba

Se expresó la dosis de FK330 en términos de peso de una sustancia simple (distinto a hidrato). Se adquirió una preparación inyectable de paclitaxel (líquido de inyección de paclitaxel "Sawai") de Sawai Pharmaceutical Co., Ltd., y se usó como paclitaxel. Se adquirieron el anticuerpo monoclonal del antígeno anti-ratón de rata F4/80, el anticuerpo policlonal anti-iNOS de conejo, y el anticuerpo anti-nitrotirosina de conejo respectivamente de AbD Serotec (Oxford, Reino Unido), Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Santa Cruz, CA, US), and Millipore Corp. (Billerica, MA, USA) y se usó.

2) Preparación y administración de sustancias de prueba

Se suspendió FK330 (20 mg/ml) en una solución acuosa de metilcelulosa al 0.5% (0.5% de MC) y se administró oralmente. Se preparó paclitaxel con solución salina fisiológica para inyección (Otsuka Pharmaceutical Group) a una concentración de 1 mg/ml al momento de uso.

3) Células

Se obtuvo Calu-6 derivado de cáncer pulmón humano (HTB-56) de American Type Culture Collection (VA, USA). Se cultivaron las células bajo condiciones a 37°C y 5% de CO₂ al usar el medio RPMI1640 que contenía 10% de suero bovino fetal inactivado por calor. Se cosecharon las células con tripsina y se suspendieron en PBS a 6×10^7 células/ml, y se mezcló la suspensión con una cantidad igual de Matrigel (nombre comercial) Basement Membrane Matrix (nombre comercial) (fabricado por Becton Dickinson Co., Bedford, MA, USA).

4) Animales

Se adquirieron Ratones desnudos machos de cinco semanas de edad (CAnN Cg-Foxn1nu/CrlCrJ(nu/nu)) de Charles River Laboratories Japan, Inc. (Japón, Kanagawa). Se criaron los animales bajo condiciones libres de

patógenos específicos (SPF, por sus siglas en inglés) a través del período de prueba mediante alimentación de alimento normal y agua potable. Se inocularon las células cultivadas subcutáneamente en la región dorsal de los ratones sin pelo a una concentración de 3×10^6 células/0.1 ml/ratón. Se asignaron los ratones sin pelo que tenían los volúmenes tumorales (eje menor $\times$ [eje mayor]² $\times$ 0.5) que oscilan de 136.8 mm³ a 248.5 mm³ al usar SAS para minimizar la fluctuación en el volumen tumoral entre los grupos y dentro del grupo.

5) Administración del fármaco

Se inició la administración del fármaco a partir del primer día de administración (Día 1). Se trataron los grupos respectivos (n = 5) como sigue. Se alimentó por sonda vía oral FK330 en una cantidad de 5 ml/kg a partir del Día 1 al Día 6, y se administró intravenosamente paclitaxel a través de la vena de la cola en una cantidad de 10 ml/kg a partir del Día 1 al Día 5.

Grupo de control: no tratado

Grupo de administración simple de FK330: FK330 100 mg/kg de bid (200 mg/kg/día, Día 1 a Día 6)

Grupo de administración simple de Paclitaxel: Paclitaxel 10 mg/kg/día (Día 1 a Día 5)

Grupo de uso combinado: FK330 100 mg/kg/kg de bid (200 mg/kg/día, Día 1 a Día 6) + paclitaxel 10 mg/kg/día (Día 1 a Día 5)

Se alimentó por sonda vía oral FK330 (5 ml/kg) dos veces al día en un intervalo de 6 a 8 horas.

Se administró paclitaxel mediante inyección de bolo intravenoso (10 ml/kg) a través de la vena de la cola 1 a 4 horas después de la administración de FK330.

6) Fijación de tejido y preparación de secciones congeladas

El día 6, se cosecharon los tejidos tumorales a partir de los ratones. Se realizó la fijación de inmersión a 4°C durante 12 horas con una solución de amortiguador del para-formaldehído-fosfato al 4% (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.). Después de la fijación de tejido, de acuerdo con el método convencional, se realizó el reemplazo de sucrosa al usar la 10%, 15% y 20% de soluciones de sucrosa/amortiguador de fosfato de una manera por etapas a 4°C. Después de la terminación del reemplazo, se incorporaron los tejidos de cáncer en el compuesto O.C.T. (Toronto Research Chemicals, Inc., Toronto, Canadá), y se prepararon las secciones congeladas con hielo

seco/acetona y se almacenaron a -80°C.

7) Tinción inmunoquímica y análisis de imagen

Se prepararon las secciones congeladas a 5 µm de espesor mediante un criostato (Sakura Finetech Japón Co., Ltd.) y secaron al aire. Se lavaron las secciones congeladas secadas con una solución de amortiguador para-formaldehído-fosfato al 4%, y después para inactivar la actividad de la peroxidasa endógena, se trataron las secciones durante 30 minutos con 0.3% de peróxidos de hidrógeno/metanol. Se realizó la tinción de macrófago de ratón, el iNOS y la nitrotirosina mediante el siguiente procedimiento. En vista de la tinción de iNOS y de la nitrotirosina, se realizó la recuperación del antígeno mediante irradiación de microondas (3 minutos/500 W) antes de la tinción inmunoquímica.

Tinción del macrófago de ratón:

Tratamiento de anticuerpo primario: Incubado con anticuerpo monoclonal del antígeno anti-ratón F4/80 de rata (dilución 1:200) durante 60 minutos a la temperatura ambiente.

Tratamiento de anticuerpo secundario: Incubado con anticuerpo de IgG anti-rata biotinilado (dilución 1:100, Vector Laboratories, Inc.) durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Sistema de detección: Se incubaron las secciones al usar un kit Vectastain ABC (Vector Laboratories, Inc.) durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Método cromogénico: Se trataron las secciones al usar un reactivo de tetrahidrocloreuro de 3,3'-diaminobenzidina (DAB, Dako, Inc.) a temperatura ambiente durante 1 minuto.

Tinción de iNOS:

Tratamiento de anticuerpo primario: Incubado con anticuerpo policlonal de iNOS de conejo (dilución 1:500) durante un día y una noche a 4°C.

Sistema de detección: Se incubaron las secciones al usar EnVision (Dako, Inc.) durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Método cromogénico: Se trataron las secciones al usar un reactivo de DAB durante 1 minuto a temperatura ambiente.

Tinción de Nitrotirosina:

Tratamiento de anticuerpo primario: Incubado con anticuerpo anti-nitrotirosina de conejo (dilución 1:500) durante un día y una noche a 4°C.

Sistema de detección: Se incubaron las secciones al usar EnVision

(Dako, Inc.) suspensión 30 minutos a temperatura ambiente.

Método cromogénico: Se trataron las secciones al usar un reactivo de DAB durante 1 minuto a temperatura ambiente.

Las imágenes teñidas (se magnificaron las imágenes teñidas de F4/80 y las imágenes de iNOS 200 veces, y se magnificaron las imágenes teñidas con nitrotirosina 400 veces) se introdujeron en una computadora a través de un microscopio, y se analizaron por medio de un sistema de análisis de imagen (Mitani Corp.) se montaron con WinROOF (versión 5.7). Se expresaron los valores como la relación (%) del área positiva por área total. Se analizaron cinco campos de visión en cada sección, y se tomaron los valores promedios como el valor.

8) Análisis estadístico

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés). Para los valores medidos respectivos de la expresión de la proteína de iNOS, se realizó la infiltración de macrófagos (F4/80), y la nitrotirosina (producto final mayor de NO) en el tejido tumoral, en una comparación del grupo de control y el grupo del único paclitaxel, el grupo del único FK330 o el paclitaxel y el grupo de uso combinado de FK330, y una comparación del grupo del único paclitaxel y el paclitaxel y el grupo de uso combinado de FK330, una prueba estadística dispereja (prueba t de Student) de la diferencia entre dos grupos. Se consideró un valor de diferencia de menos del 5% ser estadísticamente significativo. Para el procesamiento de datos, se usó Graphpad Prism versión 5.03.

9) Resultados

En ratones portadores de tumor de línea celular Calu-6 del cáncer de pulmón humano, los efectos sobre la expresión de proteína iNOS, la infiltración de macrófagos (F4/80), y la producción de nitrotirosina (producto final mayor de NO) en el tejido tumoral cuando se tratan con paclitaxel solo y la combinación con FK330 se muestran en la FIG. 16 a FIG. 18. En el tejido tumoral del grupo de control, las células positivas iNOS y los macrófagos no se reconocieron en la mayoría de los casos, y el nivel de nitrotirosina (producto final principal NO) fue también bajo. Por una parte, cuando se administró paclitaxel, la infiltración de macrófagos en el tejido tumoral se reconoció claramente. También, la expresión de la proteína iNOS en el tejido tumoral también se acentuó muy claramente, y como un resultado, la cantidad

de nitrotirosina en el tejido tumoral también se aumentó. El uso combinado de FK330, que es un inhibidor de iNOS, no afectó la infiltración de macrófagos y la expresión de la proteína iNOS en el tumor, sino la producción de nitrotirosina suprimida.

Se expresaron los resultados como el valor promedio (Mean, por sus siglas en inglés) + error estándar (SEM, por sus siglas en inglés) (n = 5). ***: $P < 0.001$ representa la diferencia significativa obtenible en comparación con el grupo de control (prueba t de Student).

10) Conclusiones

En ratones portadores de tumor del cáncer de pulmón humano (Calu-6, por sus siglas en inglés), la infiltración de macrófagos inducida por paclitaxel y la expresión de la proteína iNOS en el tejido tumoral, y por lo tanto la producción de NO inducida en el tejido tumoral. El uso combinado con FK330, que es un inhibidor iNOS, suprimió la producción de NO derivada de iNOS inducida por paclitaxel.

Aplicabilidad Industrial

La composición para el tratamiento contra el cáncer de la presente invención que comprende FK330 o una sal del mismo como un ingrediente activo, que se caracteriza por ser usada en la administración combinada con un agente antitumoral de la familia del taxano, puede obtener un efecto de tratamiento superior contra el cáncer cuando se usa en combinación con un agente antitumoral de la familia del taxano. Así, la composición para el tratamiento contra el cáncer es útil particularmente en el tratamiento de varios cánceres para los cuales se conoce que están aplicados los agentes antitumorales de la familia del taxano existentes. Los cánceres aplicables incluyen tumores sólidos y el linfoma para los cuales se usan agentes antitumorales de la familia del taxano, y de acuerdo con una modalidad, los ejemplos del cáncer incluyen cáncer de mama, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer prostático, cáncer de pulmón, cáncer gástrico (glándula gástrica), cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de células escamosas de cabeza y de cuello, cáncer del esófago, cáncer de vejiga urinaria, melanoma, cáncer de colon, cáncer de célula renal, y linfoma no Hodgkin.

REIVINDICACIONES

1 Una composición para el tratamiento contra el cáncer, que comprende N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma como un ingrediente activo, que se usa para la administración combinada junto con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano.

2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, que se usa para la administración combinada junto con paclitaxel o docetaxel.

3. La composición de acuerdo con la reivindicación 2, que se usa para la administración combinada junto con paclitaxel.

4. La composición de acuerdo con la reivindicación 2, que se usa para la administración combinada junto con docetaxel.

5. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que es una composición para la administración oral que comprende N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma en una cantidad de 60 mg/día a 1200 mg/día.

6. La composición de acuerdo con la reivindicación 5, que es una composición para la administración oral que comprende N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma en una cantidad de 60 mg/día a 200 mg/día.

7. La composición de acuerdo con de las reivindicaciones 1 a 6, que se usa para la administración combinada en combinación adicional con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del platino, de agentes antitumorales de la familia de la antraciclina, de ciclofosfamida, de fluorouracilo, de trastuzumab, y de capecitabina.

8. La composición para el tratamiento contra el cáncer de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que se administra junto con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia taxano de manera simultánea, separada, continua o con un intervalo.

9. Una composición para el tratamiento contra el cáncer para tratar

un sujeto que se somete a terapia con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, donde la composición comprende N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma como un ingrediente activo.

10. La composición para el tratamiento contra el cáncer de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que es para el tratamiento contra el cáncer en el cual se usan agentes antitumorales de la familia del taxano.

11. La composición para el tratamiento contra el cáncer de acuerdo con la reivindicación 10, donde el cáncer para el cual los agentes antitumorales de la familia del taxano se usa es el cáncer de pulmón de células no pequeñas.

12. La composición para el tratamiento contra el cáncer de acuerdo con la reivindicación 10, donde el cáncer para el cual los agentes antitumorales de la familia del taxano se usa es el cáncer de mama.

13. El uso de N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma, para la fabricación de una composición para el tratamiento contra el cáncer, que se usa para la administración combinada junto con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano.

14. La N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma, para el uso del tratamiento contra el cáncer, que se usa para la administración combinada junto con uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano.

15. Un método para tratar el cáncer, que comprende combinar uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano en una cantidad terapéuticamente eficaz que se usa para la terapia de combinación, y N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma en una cantidad terapéuticamente eficaz que se usa para la terapia de combinación; y administrar la combinación a un sujeto.

16. Un método para tratar el cáncer, que comprende administrar uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales

de la familia del taxano en una cantidad terapéuticamente eficaz que se usa para la terapia de combinación, y N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma en una cantidad terapéuticamente eficaz que se usa para la terapia de combinación, a un sujeto de manera simultánea, separada, continua, o con un intervalo.

17. Un mejorador de efecto antitumoral para uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, que comprende N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma como un ingrediente activo.

18. Un agente para suprimir o prevenir la resistencia a uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, que comprende N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma como un ingrediente activo.

19. Un mejorador de sensibilidad para uno o más agentes antitumorales seleccionados a partir de agentes antitumorales de la familia del taxano, que comprende N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida o una sal de la misma como un ingrediente activo.

RESUMEN

Existe una demanda para un método terapéutico que mejore la eficacia de un agente antitumoral de la familia del taxano contra varios tumores. Los inventores condujeron una investigación con respecto al método para mejorar el efecto antitumoral de agentes antitumorales de la familia del taxano, y como un resultado, los inventores confirmaron que una composición para el tratamiento contra el cáncer que comprende N^2 -[(2E)-3-(4-clorofenil)-2-propenoil]-N-[2-oxo-2-(4-{[6-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}piperidin-1-il)etil]-3-piridin-2-il-1-alaninamida (FK330, por sus siglas en inglés) o una sal de la misma como un ingrediente activo, mejora el efecto antitumoral de los agentes antitumorales de la familia del taxano, completando así la invención. Es decir, la invención se refiere a una composición para el tratamiento del cáncer que comprende la FK330 o una sal de la misma como un ingrediente activo, que es para la administración combinada con uno o más agentes antitumorales seleccionados de agentes antitumorales de la familia del taxano.

Fig. 1

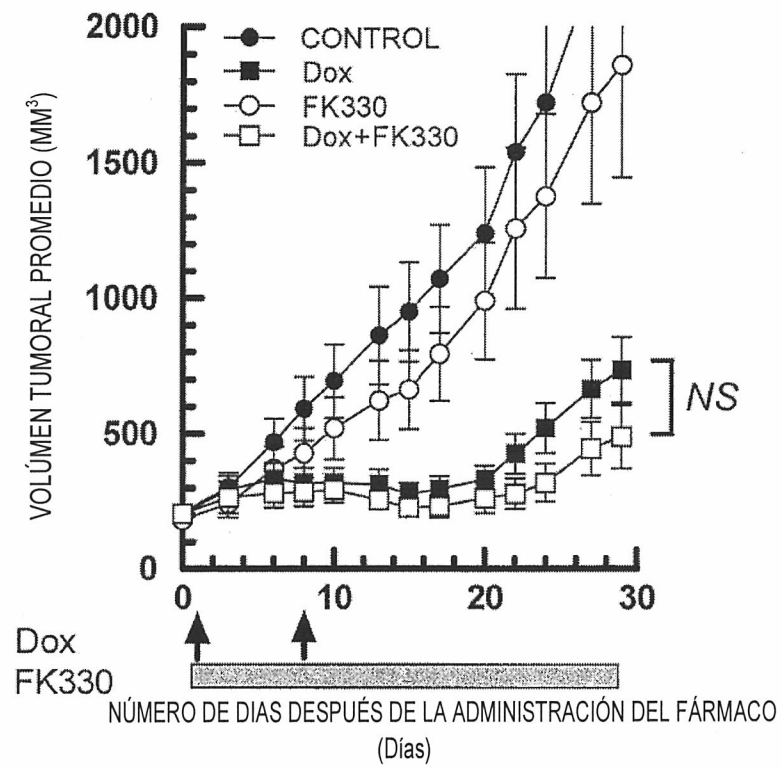


Fig. 2

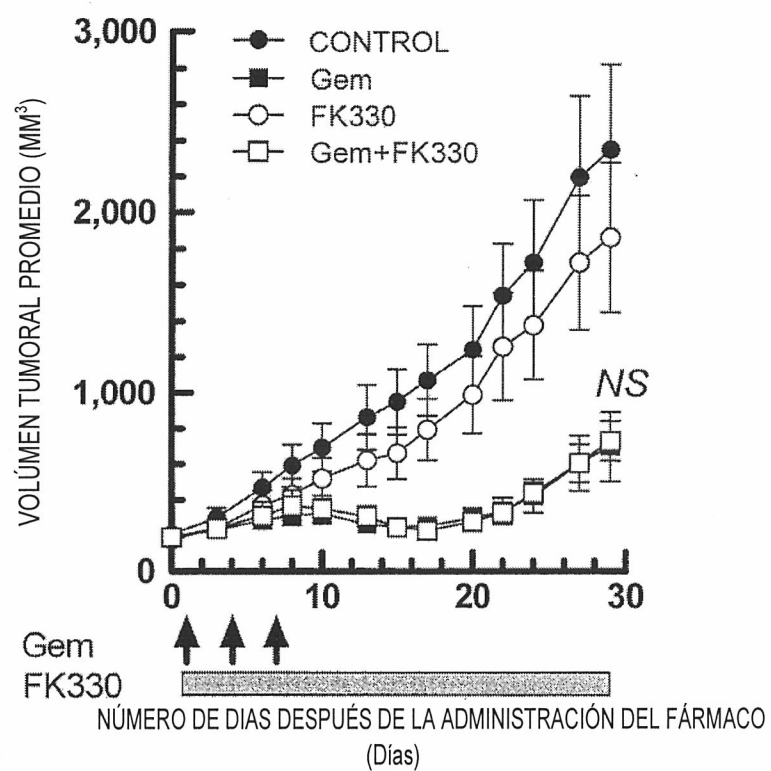


Fig. 3

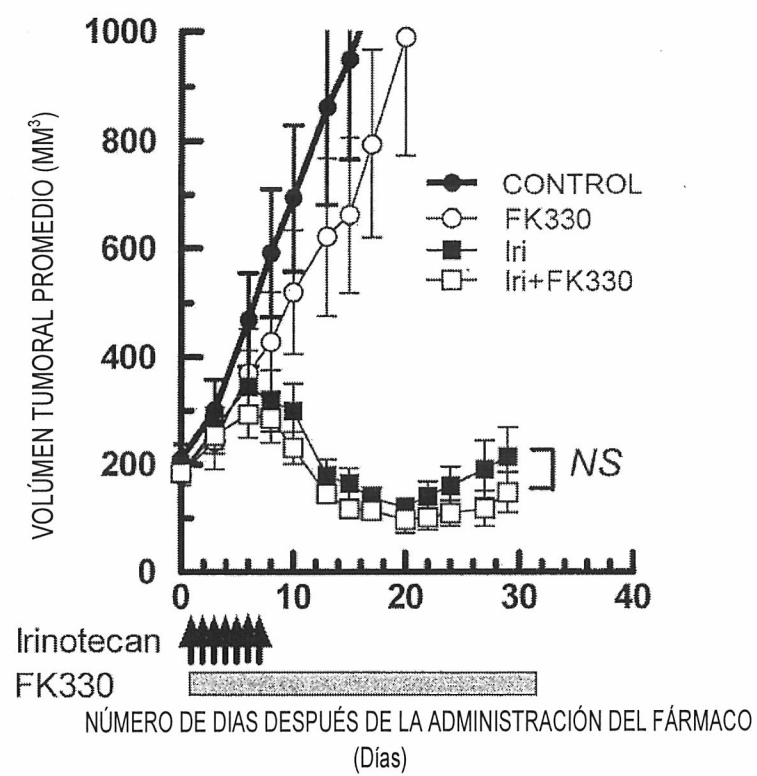


Fig. 4

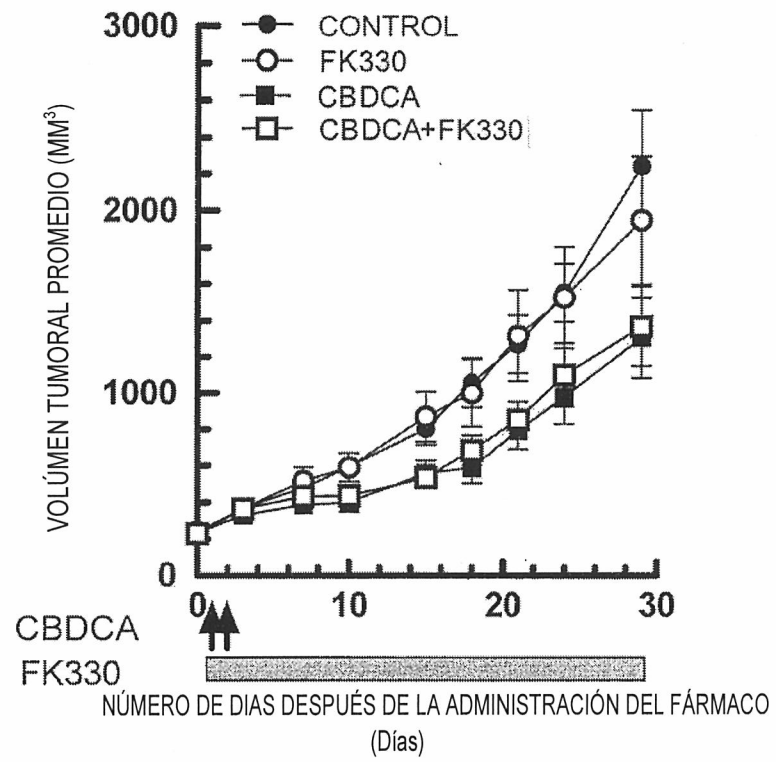


Fig. 5

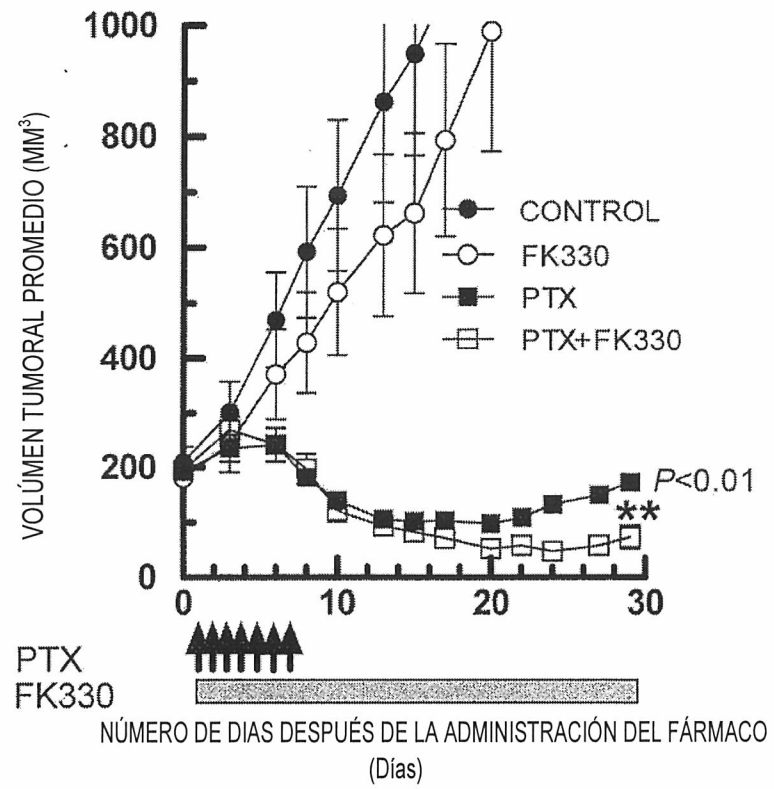


Fig. 6

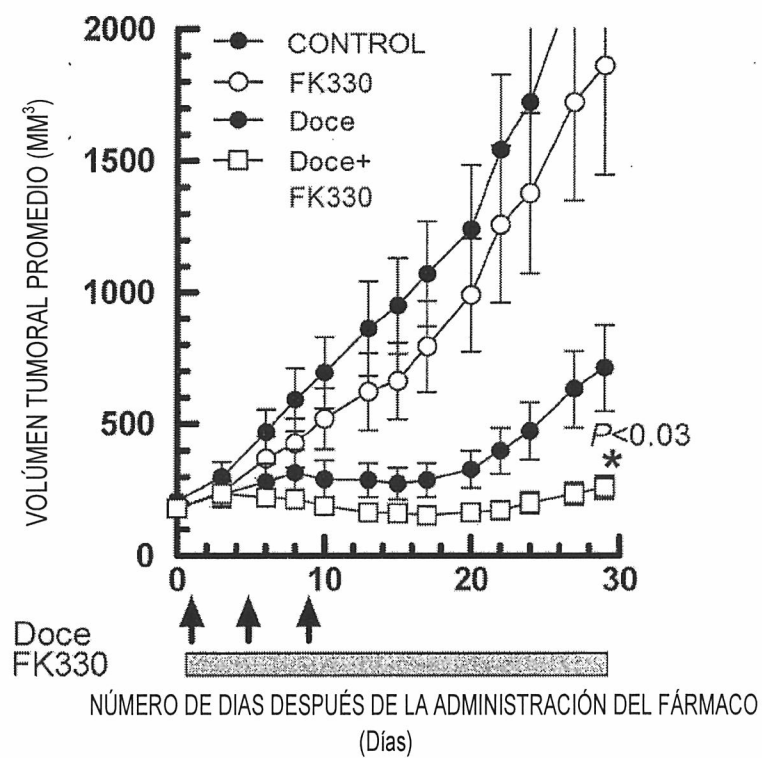


Fig. 7

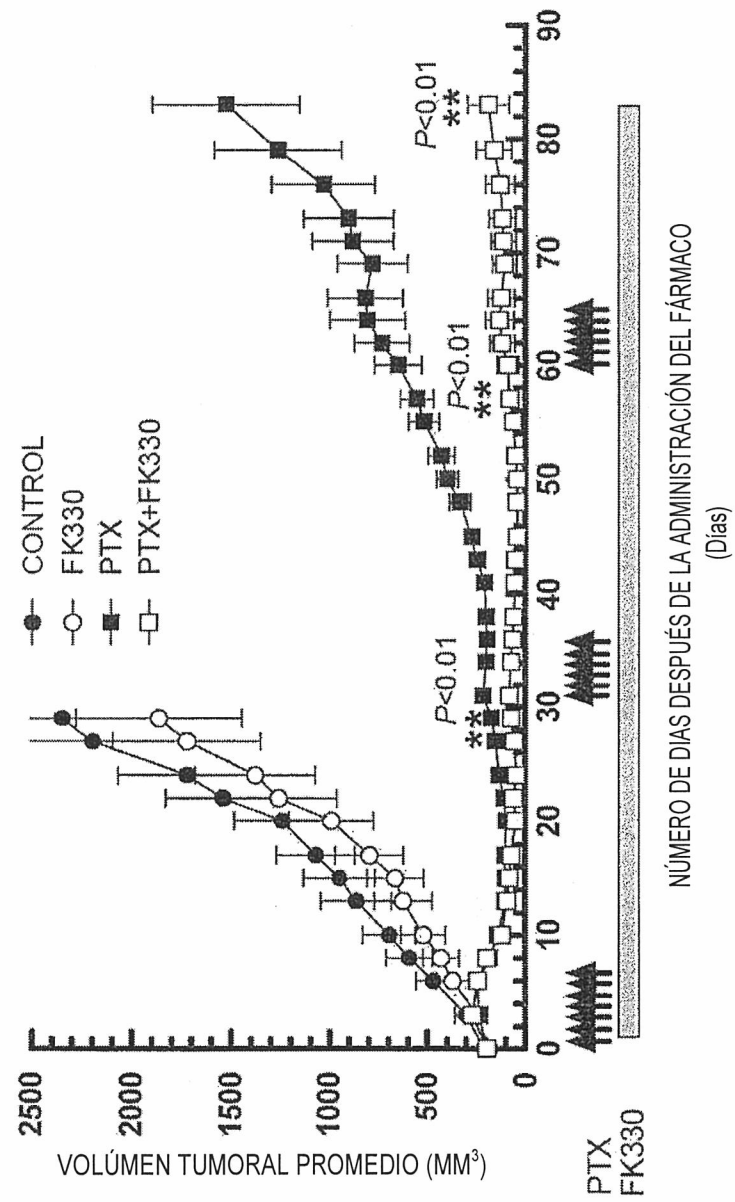


Fig. 8

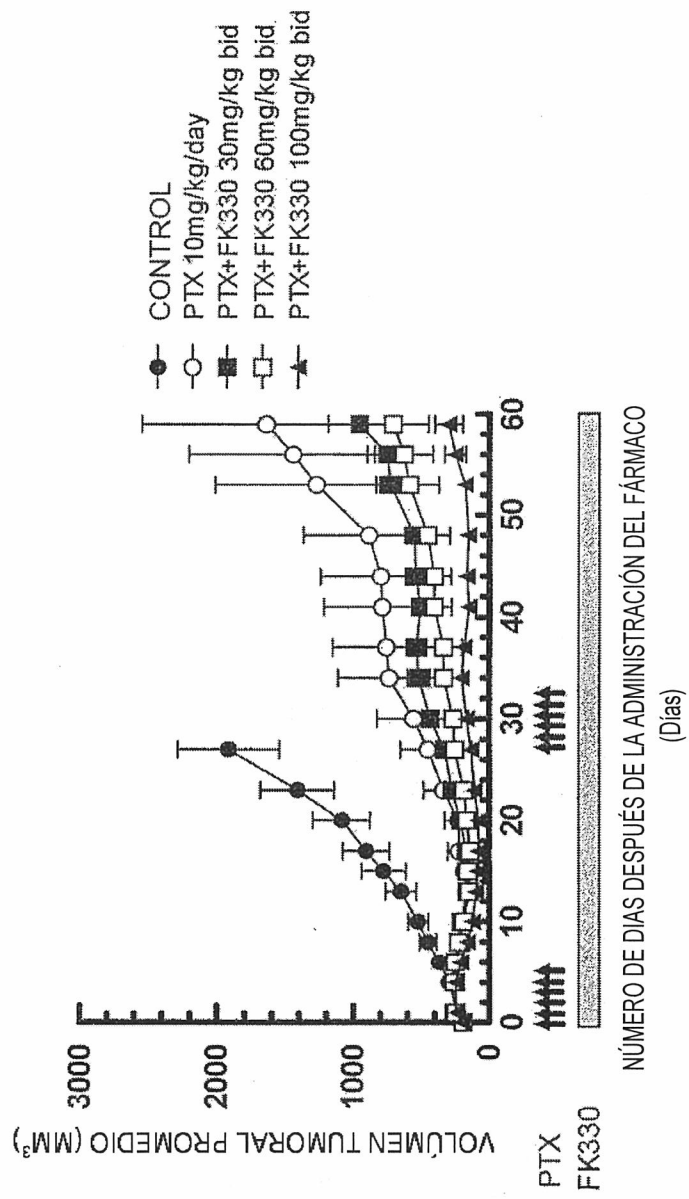


Fig. 9

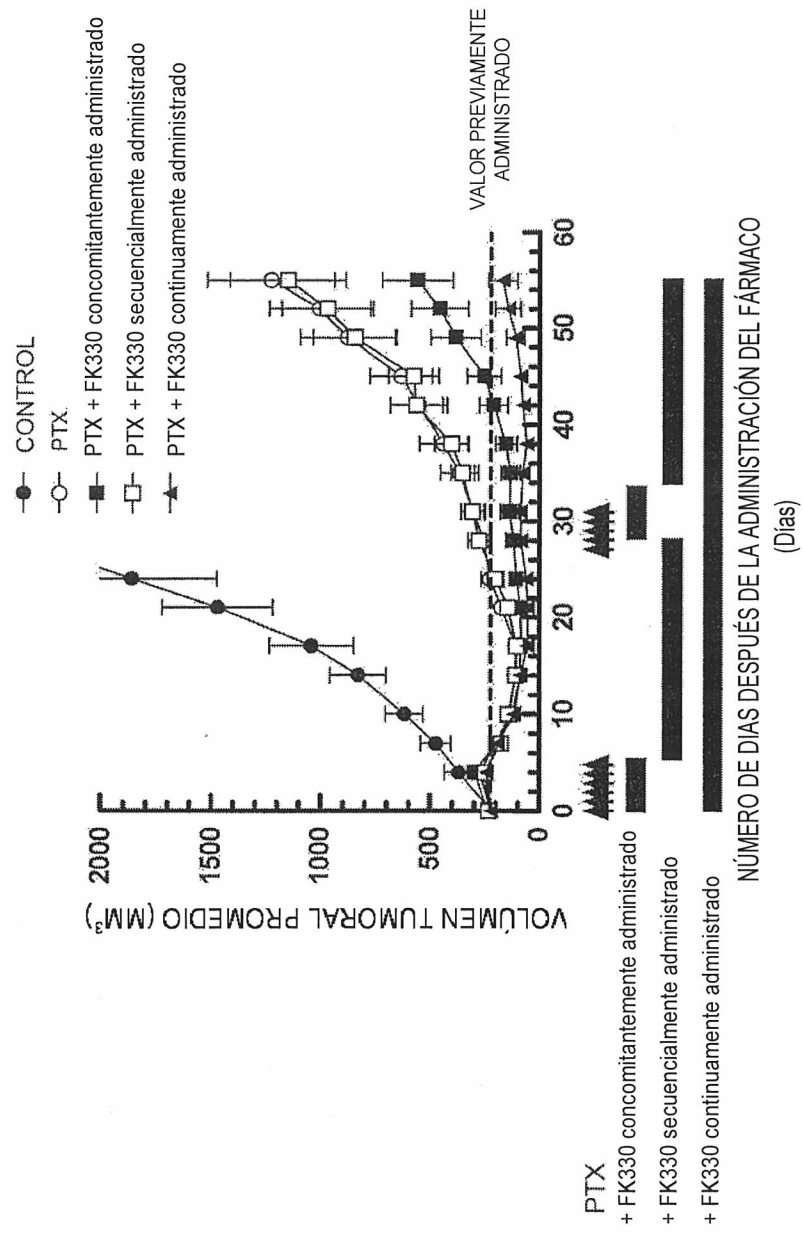


Fig. 10

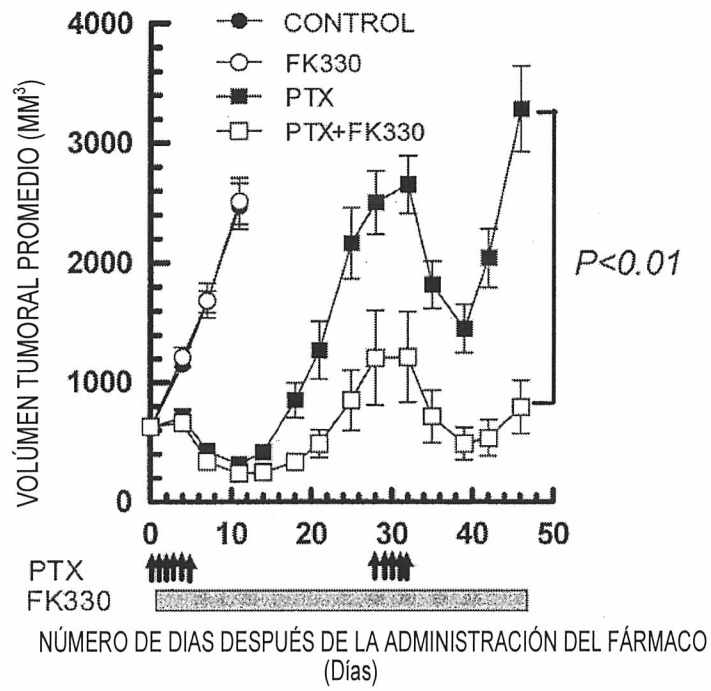


Fig. 11

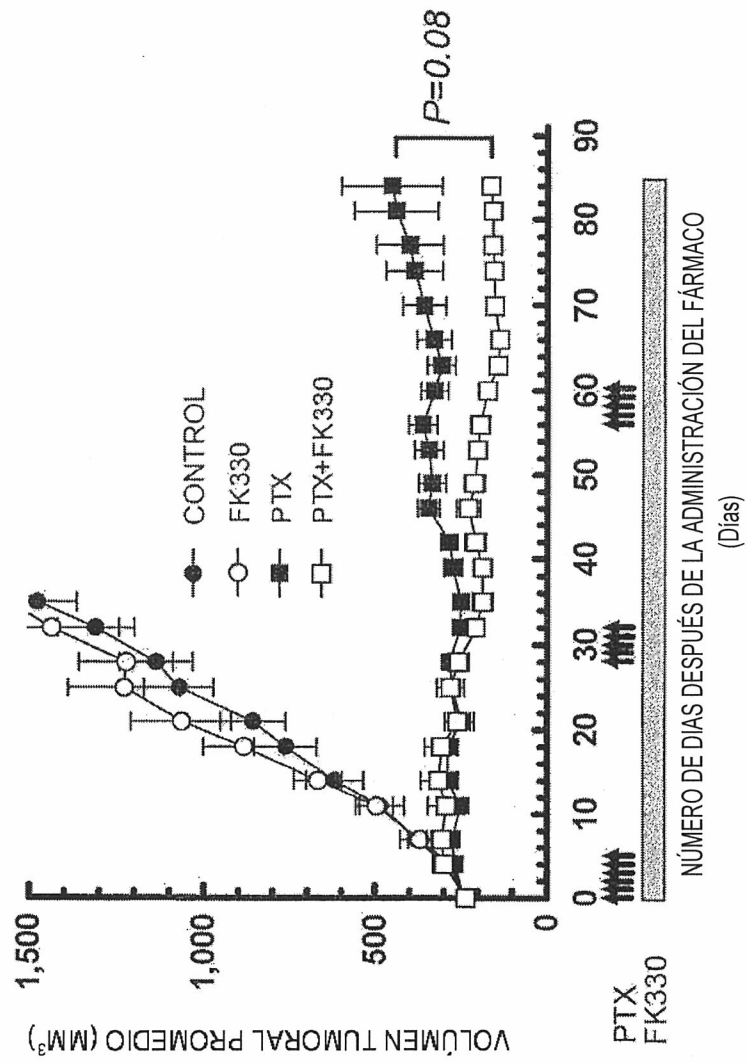


Fig. 12

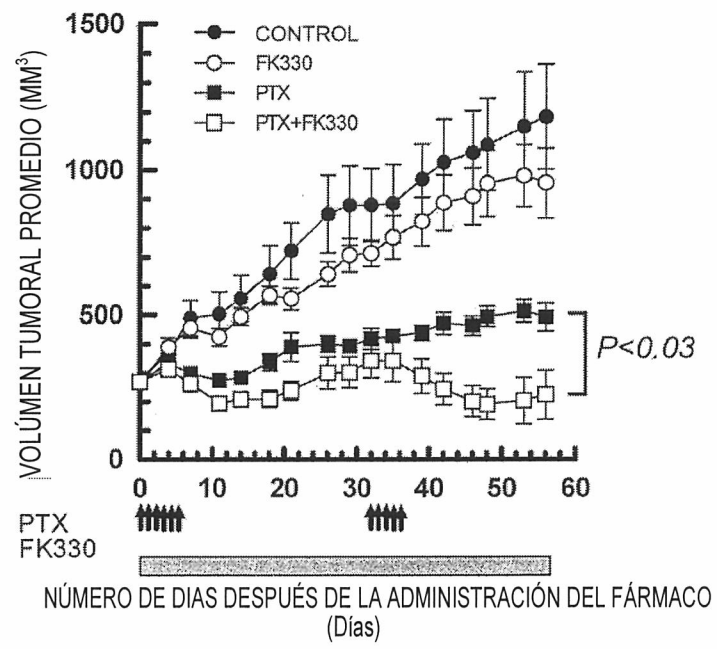


Fig. 13

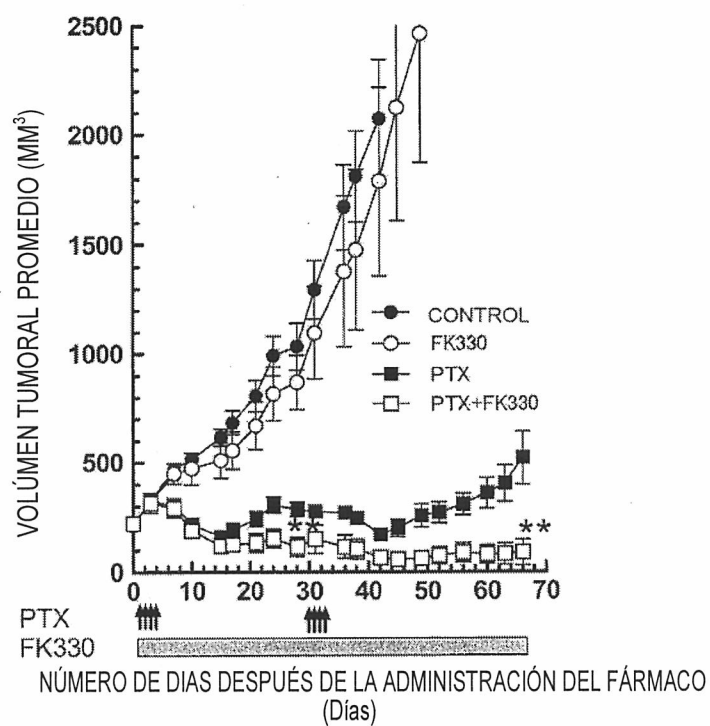


Fig. 14

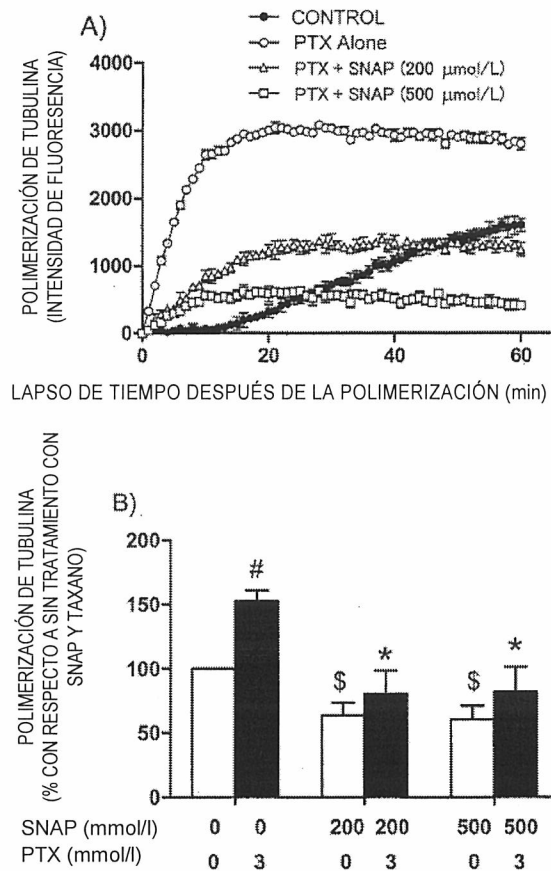


Fig. 15

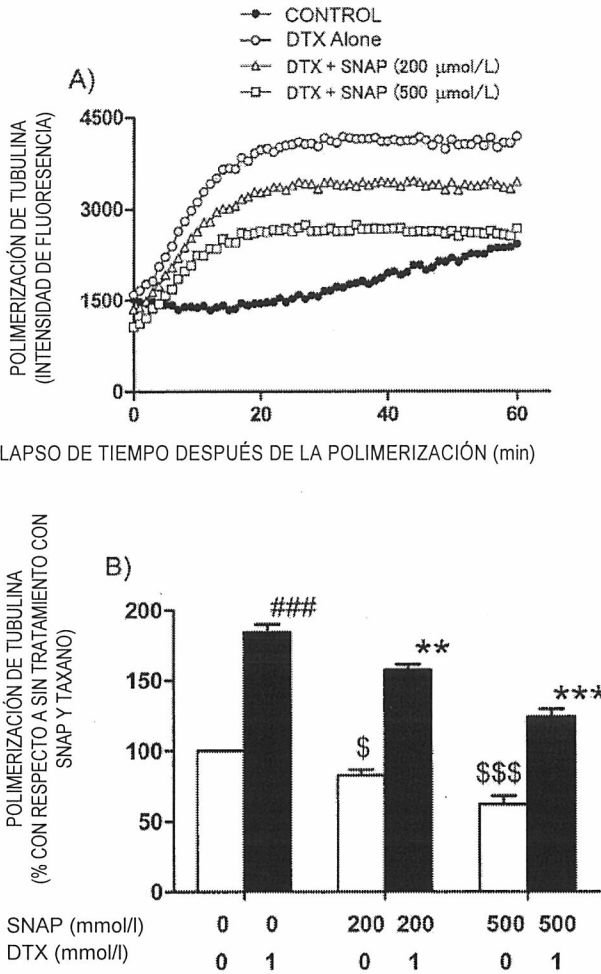


Fig. 16

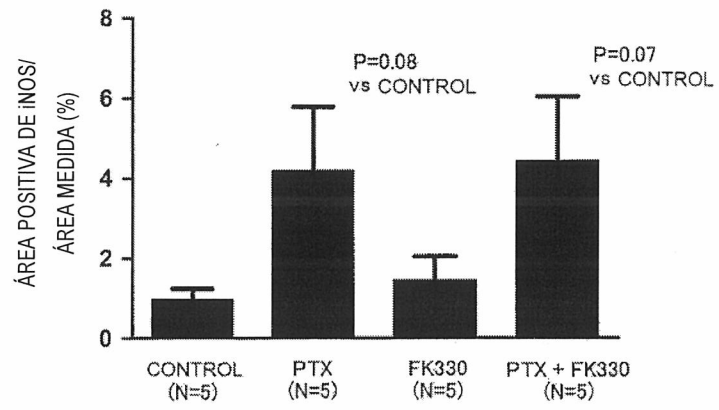


Fig. 17

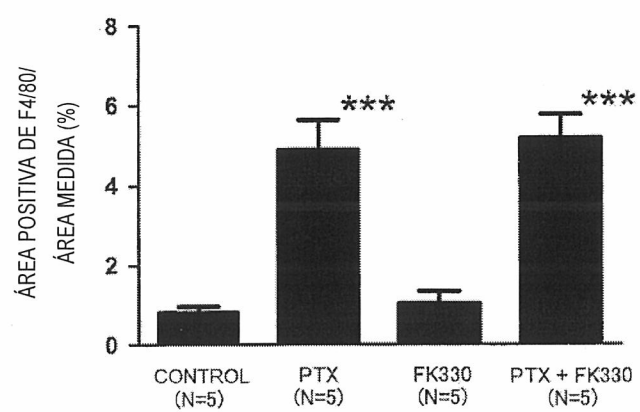


Fig. 18

