

COMBINACIONES FARMACÉUTICAS PARA TRATAR CÁNCER

Campo técnico

La presente invención se refiere a combinaciones y composiciones
5 que son útiles en el tratamiento del cáncer, por ejemplo en el
tratamiento del cáncer de mama o de cánceres hematológicos tales
como mieloma múltiple, linfoma o leucemia.

Antecedentes de la invención

El cáncer es una de las enfermedades más mortales. El cáncer es
10 una condición en la cual las células en una parte del cuerpo
experimentan un crecimiento fuera de control. De acuerdo los últimos
datos de American Cancer Society, se estima que habrá 1.67 millones
de nuevos casos de cáncer en los EE.UU. en 2014. El cáncer es la
segunda causa de muerte en los Estados Unidos Norteamericanos (en
15 segundo lugar a las enfermedades del corazón) y va a tomar más de
585,000 vidas en 2014. De hecho, se estima que el 50% de todos los
hombres y el 33% de todas las mujeres que viven en los Estados
Unidos van a desarrollar algún tipo de cáncer en su vida. Por lo tanto,
el cáncer constituye una importante carga de salud pública y
20 representa un costo significativo en los Estados Unidos. Estas cifras
se reflejan en otras partes de la mayoría de los países a nivel mundial,
aunque los tipos de cáncer y las proporciones relativas de la población
que desarrolla el cáncer varían dependiendo de muchos factores
diferentes tales como la genética y la dieta.

25 Durante décadas, la cirugía, la quimioterapia y la radiación fueron

los tratamientos establecidos para varios tipos de cáncer. Los pacientes usualmente reciben una combinación de estos tratamientos dependiendo del tipo y extensión de su enfermedad. Pero la quimioterapia es la opción más importante para los pacientes con

5 cáncer cuando es imposible el tratamiento quirúrgico (es decir, la eliminación del tejido enfermo). Mientras que la cirugía es a veces eficaz en la eliminación de tumores localizados en ciertos sitios, por ejemplo, en el seno, colon y la piel, no se puede utilizar en el tratamiento de tumores localizados en otras áreas, tales como la

10 columna vertebral, ni en el tratamiento de los cánceres hematológicos diseminados incluyendo cánceres de la sangre y tejidos formadores de sangre (tales como la médula ósea). Los mismos incluyen mieloma múltiple, linfoma y leucemia. La radioterapia implica la exposición del tejido vivo a la radiación ionizante que causa la muerte o el daño a las

15 células expuestas. Los efectos secundarios de la radioterapia pueden ser agudos y temporales, mientras que otros pueden ser irreversibles. La quimioterapia implica la interrupción de la replicación celular o el metabolismo celular. La misma se utiliza con mayor frecuencia en el tratamiento del cáncer de mama, pulmón y testicular. Una de las

20 principales causas de fracaso en este tratamiento del cáncer es el desarrollo de la resistencia a los medicamentos por las células cancerosas, un problema grave que puede conducir a la recurrencia de la enfermedad o incluso la muerte. Por lo tanto, se necesitan tratamientos de cáncer más efectivos.

25 El mieloma múltiple es un problema importante y creciente. Es un

cáncer que surge de las células plasmáticas. Las células plasmáticas normales producen inmunoglobulinas para combatir la infección. En el mieloma, las células plasmáticas se vuelven anormales, se multiplican incontrolablemente y liberan sólo un tipo de anticuerpo, conocido como paraproteína, que no tiene función útil. Esta tiende a acumularse en la médula ósea y circula en la sangre y también se puede detectar en la orina. Afecta a múltiples sitios en el cuerpo (por lo tanto, la mieloma “múltiple”) donde la médula ósea es normalmente activa en adultos. Las principales formas de mieloma múltiple (o mieloma como también se conoce) son mieloma activo, plasmacitoma, mieloma de cadena ligera y mieloma no secretora. El número de nuevos casos de mieloma en Estados Unidos Norteamericanos en 2011 fue de 6.1 por 100,000 hombres y mujeres por año y el porcentaje de supervivencia más allá de cinco años fue del 45%. Se estima que el número de nuevos casos en los EE.UU. en 2014 será de más de 24,000 (1.4% de todos los casos de cáncer). Mientras que el número de muertes en 2014 será mayor a 11,000 (1.9% de todos los casos de cáncer).

En WO-A-2010/085377, se demostró que el compuesto de la fórmula I tiene una excelente actividad *in vitro* contra líneas celulares de mieloma múltiple, con actividades en el intervalo de x 35-100 mayor a la actividad mostrada por bendamustina.

La leucemia es un tipo de cáncer de la sangre o médula ósea caracterizada por un aumento anormal de los glóbulos blancos inmaduros llamados "blastos". En lugar de producir glóbulos blancos normales y funcionales para combatir la infección, el cuerpo produce

un gran número de estos blastos no funcionales. La leucemia es un término amplio que abarca un espectro de enfermedades. A su vez, forma parte del grupo aún más amplio de enfermedades que afectan a la sangre, la médula ósea y el sistema linfoide, que se conocen como neoplasias hematológicas. Las formas más comunes son la leucemia linfoblástica aguda (LLA), la leucemia linfocítica crónica (LLC), la leucemia mieloide aguda (LMA) y la leucemia mieloide crónica (LMC), con formas menos comunes como la leucemia de células pilosas (LCP), leucemia de células T prolinfocíticas (LP-T), leucemia linfocítica granular grande y leucemia linfoblástica aguda de células T. Se estima que el número de nuevos casos en los Estados Unidos de Norteamérica en 2014 será de más de 52,000 (3.1% de todos los nuevos tipos de cáncer en los EE.UU.) El porcentaje de supervivencia a lo largo de cinco años es actualmente de 57.2%, cifra significativamente inferior a la de muchos otros tipos de cáncer, con una tasa de supervivencia de cinco años para la leucemia mieloide aguda siendo particularmente baja en sólo 20%.

El linfoma es un cáncer del sistema linfático. Hay dos tipos principales de linfoma, es decir, linfoma Hodgkin y linfoma no Hodgkin.

El linfoma no Hodgkin es la forma más común de linfoma. El sistema linfático se extiende por todo el cuerpo, por lo que es posible encontrar linfoma no Hodgkin en casi todas las partes del cuerpo. En pacientes con linfoma no Hodgkin, algunos de sus glóbulos blancos (linfocitos) se dividen anormalmente. Estos no tienen tiempo de descanso alguno como las células normales y empiezan a dividirse

continuamente, por lo que se producen demasiados. No mueren naturalmente como suelen hacerlo. Estas células comienzan a dividirse antes de que estén completamente maduras y por lo tanto no pueden luchar como lo hacen los glóbulos blancos normales. Todos los linfocitos anormales empiezan a acumularse en los ganglios linfáticos u otros lugares como la médula ósea o el bazo. Se pueden convertir posteriormente en tumores y comienzan a causar problemas dentro del sistema linfático o el órgano en el cual están creciendo. Por ejemplo, si un linfoma comienza en la glándula tiroides, puede afectar la producción normal de hormonas tiroideas. Hay muchos tipos diferentes de linfoma no Hodgkin. Estos linfomas se pueden clasificar de diferentes maneras. Una manera es por el tipo de célula afectada. En el linfoma no Hodgkin dos tipos de linfocitos pueden ser afectados - las células B y las células T. Esto se clasifica como linfoma de células B o linfoma de células T. La mayoría de las personas con linfoma no Hodgkin tienen linfomas de células B. Los linfomas de células T son más comunes en adolescentes y adultos jóvenes.

Las células del linfoma Hodgkin tienen un aspecto particular bajo el microscopio. Estas células se llaman células de Reed Sternberg. Los linfomas no Hodgkin no tienen células Reed Sternberg. Es importante para los médicos poder decir la diferencia entre el linfoma de Hodgkin y las células de linfoma no Hodgkin, ya que son dos enfermedades diferentes. En el linfoma de Hodgkin, son las células de los ganglios linfáticos que se han vuelto cancerosas.

El porcentaje de supervivencia a lo largo de 5 años en 2009 para

los pacientes con linfoma no Hodgkin fue del 63%, mientras que la tasa de supervivencia de linfoma de Hodgkin en el mismo período fue del 83%.

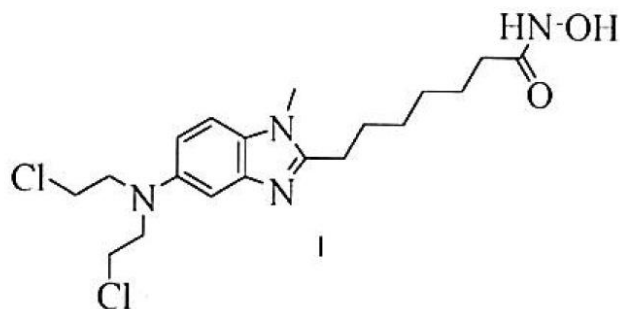
El cáncer de mama es un cáncer que se forma en los tejidos del seno. El tipo más común de cáncer de mama es el carcinoma ductal, que comienza en el revestimiento de los conductos lácteos (tubos finos que llevan la leche desde los lóbulos de la mama hasta el pezón). Otro tipo de cáncer de mama es el carcinoma lobular, que comienza en los lóbulos (glándulas de la leche) de la mama. Los cánceres de mama se pueden clasificar en subgrupos como tumores de claudina baja, tumores de tipo basal, tumores positivos del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), tumores L luminal y tumores B luminal. El cáncer de mama invasivo es el cáncer de mama que se ha propagado desde donde comenzó en los conductos o lóbulos del seno al tejido normal circundante. El cáncer de mama se produce tanto en hombres como en mujeres. Aunque el cáncer de mama masculino es raro. En 2014, se estima que habrá cerca de 233,00 casos nuevos en mujeres y 2,400 en hombres, con 40,00 muertes de mujeres y poco más de 400 muertes de hombres.

Aproximadamente 15 de cada 100 mujeres con cáncer de mama tienen cáncer de mama triple negativo, es decir, son negativos a estrógenos, son negativos a la progesterona y son negativos a HER2. El cáncer de mama triple negativo recurrente es una condición de una necesidad médica altamente insatisfecha, debido a su agresiva biología, el rápido desarrollo de la resistencia a los fármacos y la falta

de objetivos moleculares. Hasta ahora, la quimioterapia sigue siendo el estándar de atención para el cáncer de mama triple-negativo avanzado con una mediana de supervivencia global escasa.

En el documento WO-A-2010/085377, se describe el compuesto de la fórmula I que sigue. Es una primera molécula de fusión de alquilación funcional-HDAC de primera clase que inhibe potentemente la vía HDAC.

10



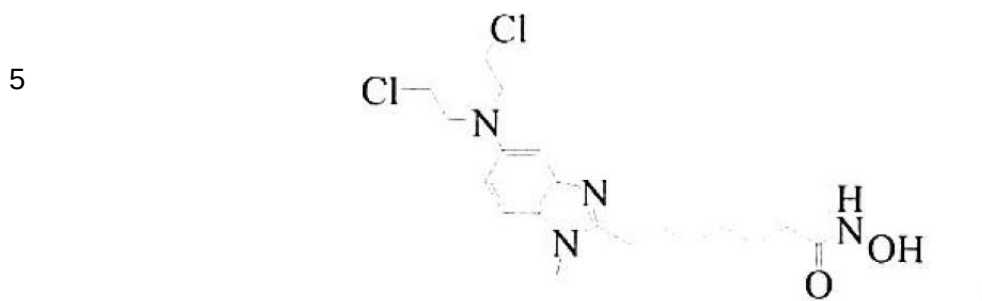
Los ensayos biológicos mostraron que el compuesto de la fórmula I inhibe potentemente la enzima HDAC (HDAC1 IC_{50} de 9 nM) y se ha demostrado que tiene una excelente actividad *in vitro* contra las líneas celulares de mieloma múltiple.

Hay una necesidad de tratamientos de cáncer más eficaces, incluyendo el tratamiento del cáncer de mama y de cánceres hematológicos tales como mieloma múltiple, linfoma o leucemia. Actualmente, estas afecciones afectan a muchas personas y el pronóstico a medio y largo plazo no es bueno para muchas de estas condiciones.

Breve descripción de la invención

En un primer aspecto de la presente invención se proporciona una

combinación que comprende un inhibidor de proteasoma y un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



10 Se ha descubierto sorprendentemente que las combinaciones de un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un inhibidor de proteasoma tal como carfilzomib o bortezomib son particularmente efectivos en el tratamiento de cánceres que incluyen cánceres hematológicos tales como mieloma

15 múltiples, linfoma y leucemia y cáncer de mama, de manera que son altamente prometedores en los esfuerzos para direccionar el problema para encontrar tratamientos más efectivos para el cáncer. Las combinaciones pueden además comprender opcionalmente un glucocorticoide tal como dexametasona. Estas combinaciones

20 adicionales también son particularmente efectivas en el tratamiento del cáncer.

En un segundo de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable y una combinación de acuerdo con el

25 primer aspecto de la invención.

En un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable y una combinación de acuerdo con el primer aspecto de la invención.

- 5 En un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona una combinación, composición o kit de acuerdo con el primer, segundo o tercer aspectos de la presente invención para uso en el tratamiento del cáncer.

10 En un quinto aspecto de la presente invención, se proporciona un método para tratar cáncer en un paciente que necesita del mismo que comprende administrar a dicho paciente una combinación, composición o kit de acuerdo con el primer, segundo o tercer aspecto de la presente invención.

15 En un sexto aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de mieloma múltiple recurrente/refractario. En una modalidad, el compuesto de la fórmula (I) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo es para utilizarse en el tratamiento de mieloma múltiple recurrente/refractario en
20 combinación con un inhibidor de proteasoma y opcionalmente además en combinación con un glucocorticoide.

25 En un séptimo aspecto de la presente invención, se proporciona un método de tratamiento de mieloma múltiple recurrente/refractario en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente un compuesto de la fórmula (I) o la sal farmacéuticamente

aceptable del mismo. En una modalidad, el compuesto de fórmula (1) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en combinación con un inhibidor de proteasoma y puede además opcionalmente administrarse en combinación también con un glucocorticoide.

Descripción de las figuras

La figura 1 es una representación gráfica del % de células de mieloma múltiple MM1S sobrevivientes *in vitro* como un % de control en comparación con la concentración para diferentes compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos individuales y como combinaciones (doble y triple);

La figura 2 es una representación gráfica del % de células de mieloma múltiple MM1S que sobreviven *in vitro* como un % de control en comparación con la concentración para diferentes compuestos ensayados después de 72 horas de incubación, para compuestos individuales y como combinaciones (doble y triple);

La figura 3 es una representación gráfica del crecimiento tumoral (mm^3) contra el número de días de estudio para diferentes compuestos ensayados para ratones CB17-SCID inoculados subcutáneamente en el flanco derecho con 3×10^6 células MM1S, para compuestos individuales y como combinaciones;

La figura 4 es una representación gráfica del % de células de mieloma múltiple RPMI8226 sobrevivientes *in vitro* como un % de control en comparación con la concentración para diferentes compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para

compuestos individuales y como combinaciones (doble);

La figura 5 es una representación gráfica del % de células de mieloma múltiple abstinentes 2013-10-16 MTS AMO azbz como % de control frente a la concentración para diferentes compuestos
5 ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos individuales y como combinaciones (doble):

La figura 6 es una representación gráfica del % de células de linfoma de célula del manto MTS Jeko 2014-01-15 conservadas *in vitro* en % de control en comparación con la concentración para diferentes
10 compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos individuales y como combinaciones (doble);

La figura 7 es una representación gráfica del % de células de linfoma de célula de manto Granta 2014-01-15 mantenidas *in vitro* en porcentaje de control en comparación con la concentración para
15 diferentes compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos simples y como combinaciones (doble);

La figura 8 es una representación gráfica del % de supervivencia *in vitro* de las células de cáncer de mama de tipo 2014-02-21 MTS MDA-MB468 basales como % de control frente a la concentración para
20 diferentes compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos individuales y como combinaciones (doble);

La figura 9 es una representación gráfica del % de las células de leucemia promielocítica MTS HL-60 sobrevivientes *in vitro* cómo % de control en comparación con la concentración para diferentes
25 compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para

compuestos individuales y como combinaciones (doble);

La figura 10 es una representación gráfica del % de las células de leucemia mieloide aguda MTS U937 sobrevivientes *in vitro* como % de control en comparación con la concentración para diferentes
5 compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos individuales y como combinaciones (doble);

La figura 11 es una representación gráfica de las células de linfoma de células B BJAB (línea central germinal) sobrevivientes *in vitro* en % de control en comparación con la concentración para
10 diferentes compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos individuales y como combinaciones (doble);

La figura 12 es una representación gráfica del % de células de linfoma de células B OciLy3 (tipo ABC) sobrevivientes *in vitro* como % de control en comparación con la concentración para diferentes
15 compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos individuales y como combinaciones (doble);

La figura 13 es una representación gráfica del % de células de linfoma de células B TMD8 (tipo ABC) sobrevivientes *in vitro* como un % de control en comparación con la concentración para diferentes
20 compuestos ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos individuales y como combinaciones (doble);

La Figura 14 es una representación gráfica del % de células de cáncer de mama triple negativo BT-549 como % de control en comparación con la concentración para diferentes compuestos
25 ensayados después de 48 horas de incubación, para compuestos

individuales y como combinaciones (doble); y

La figura 15 es una representación gráfica del % de la fracción superviviente de las líneas celulares de glioblastoma T98G, U251MG y U87MG *in vitro* contra dosis de radioterapia (Gy) en combinación con dos concentraciones diferentes del compuesto de la fórmula I (EDO-S 101) contra un control con solo radioterapia.

Descripción detallada de la invención

En la presente solicitud se utilizan una serie de términos y frases generales, que se deben interpretar como sigue.

10 "Animal" incluye humanos, mamíferos no humanos (por ejemplo, perros, gatos, conejos, caballos, ovejas, cabras, cerdos, ciervos y similares) y no mamíferos (por ejemplo, pájaros y similares).

"Sales farmacéuticamente aceptables" significa sales de compuestos de la presente invención que son farmacéuticamente aceptables, como se ha definido anteriormente, y que poseen la actividad farmacológica deseada. Tales sales incluyen sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, o con ácidos orgánicos. Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales de adición de bases que se pueden formar cuando los protones ácidos presentes son capaces de reaccionar con bases inorgánicas u orgánicas. Generalmente, tales sales se preparan, por ejemplo, haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico o en una mezcla de los dos. Generalmente, se prefieren medios no acuosos tales como éter,

15
20
25

acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Ejemplos de las sales de adición de ácidos incluyen sales de adición de ácidos minerales tales como, por ejemplo, sales de adición de ácido clorhídrico, hidrobromuro, hidroyoduro, sulfato, bisulfato, sulfamato, 5 nitrato, fosfato y ácido orgánico tales como, por ejemplo, acetato, trifluoroacetato, maleato, fumarato, citrato, succinato de oxalato, tartrato, salicilato, tosilato, lactato, naftalenosulfona, malato, mandelato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato. Ejemplos de las sales de adición de álcali incluyen sales inorgánicas tales como, por ejemplo, sales de sodio, potasio, calcio y amonio y sales alcalinas 10 orgánicas tales como, por ejemplo, etilendiamina, etanolamina, N,N-dialquilenotanolamina, trietanolamina y sales de aminoácidos básicos.

Se ha descubierto sorprendentemente que las combinaciones de un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable 15 del mismo y un inhibidor de proteasoma tal como carfilzomib o bortezomib son particularmente eficaces en el tratamiento de cánceres incluyendo cánceres hematológicos tales como mieloma múltiple, leucemia y linfoma y cáncer de mama de tal manera que son altamente prometedores en los esfuerzos para resolver el problema de encontrar 20 tratamientos más eficaces para el cáncer. Las combinaciones pueden comprender opcionalmente además un glucocorticoide tal como dexametasona. Estas combinaciones adicionales son también particularmente eficaces en el tratamiento del cáncer.

En la combinación de la presente invención, la sal 25 farmacéuticamente aceptable del compuesto de la fórmula I puede ser

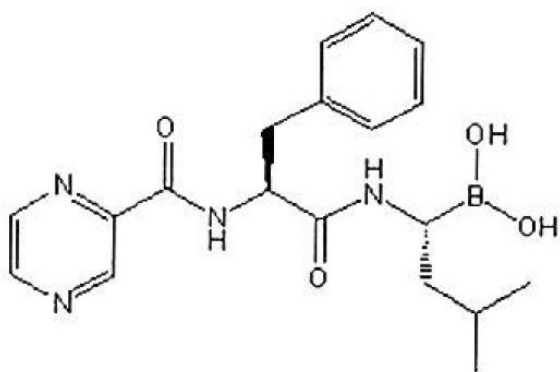
preferiblemente el clorhidrato, hidrobromuro, hidroyoduro, sulfato, bisulfato, sulfamato, nitrato, fosfato, citrato, metanosulfonato, trifluoroacetato, glutamato, glucuronato, glutarato, malato, maleato, succinato, fumarato, tartrato, tosilato, salicilato, lactato, naftalenosulfonato o acetato y más preferiblemente acetato.

En la combinación de la presente invención, el inhibidor de proteasoma se puede seleccionar preferiblemente del grupo constituido por bortezomib, carfilzomib, marizomib, delanzomib (CEP-18770), oprozomib (ONX 0912), ixazomib (MLN-9708) y LU-102 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Particularmente preferible, el inhibidor de proteasoma se puede seleccionar de bortezomib, carfilzomib y LU-102.

Las estructuras de estos inhibidores de proteasoma son las siguientes:

15

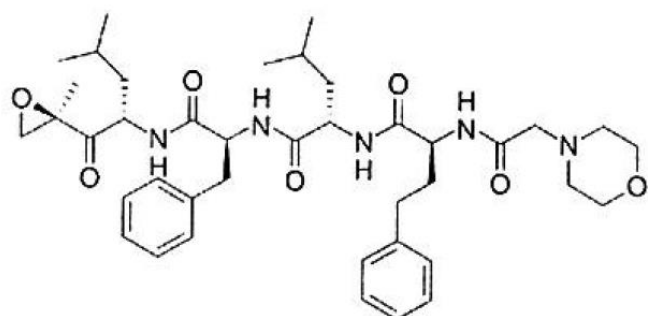
20



Bortezomib

25

5



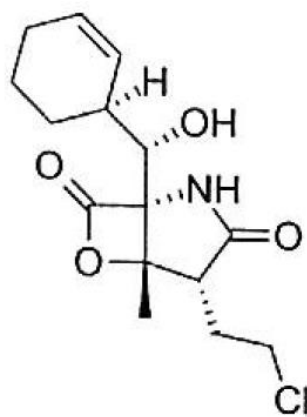
Carfilzomib

10



LU-102

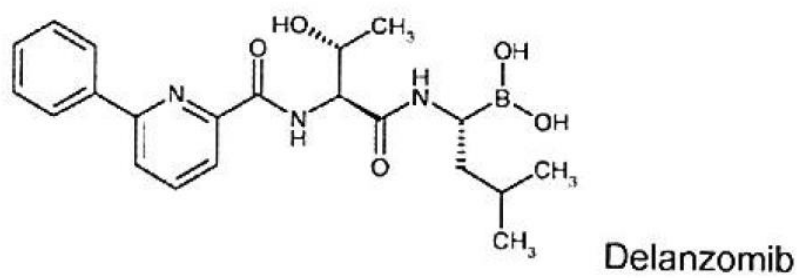
15



20

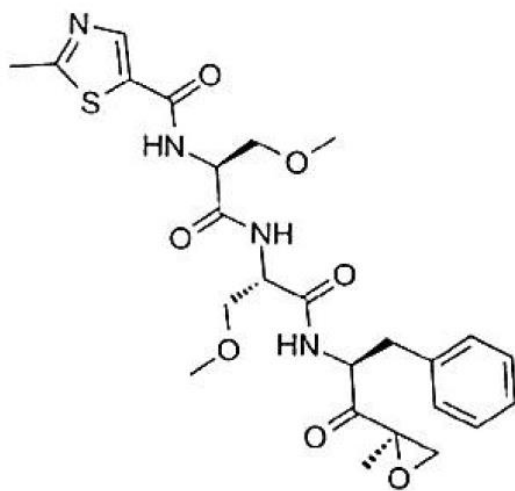
Marizomib

25



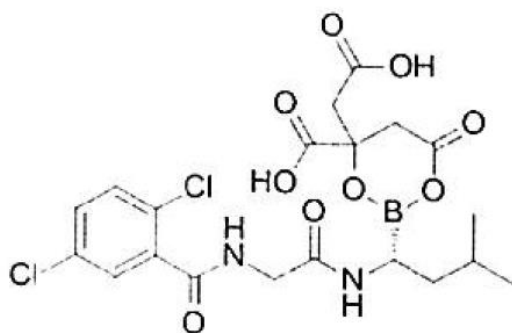
Delanzomib

5



Oprozomib

15



Ixazomib

20

La combinación de la presente invención puede comprender además un glucocorticoide. En esta modalidad de la combinación de la presente invención, el glucocorticoide se puede seleccionar preferiblemente del grupo que consiste en dexametasona, acetonida de fluocinolona y prednisona y lo más preferiblemente es dexametasona.

25

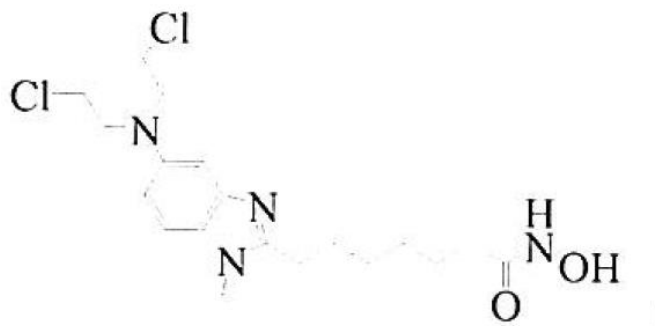
En una combinación preferida adicional de la presente invención que comprende un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un inhibidor de proteasoma y opcionalmente un glucocorticoide, dicha combinación puede comprender además uno o más agentes farmacéuticamente activos adicionales. Los agentes farmacéuticamente activos particularmente adecuados son agentes antitumorales que tienen un modo de acción diferente al compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el inhibidor de proteasoma y el glucocorticoide, por ejemplo, agentes alquilantes tales como nitrosoureas, etileniminas, alquilsulfonatos, hidrazinas y triazinas y agentes a base de platino; alcaloides de plantas, taxanos. alcaloides vinca; antibióticos antitumorales tales como cromomicinas, antraciclinas y diversos antibióticos tales como mitomicina y bleomicina; anti metabolitos tales como antagonistas de ácido fólico, antagonistas de pirimidina, antagonistas de purina e inhibidores de adenosina desaminasa; inhibidores de topoisomerasa tales como inhibidores de topoisomerasa I, inhibidores de topoisomerasa II, diversos anti-neoplasticos tales como inhibidores de ribonucleótido reductasa, inhibidores de esteroides adrenocorticales, agentes anti-microtúbulos y retinoides; proteínas cinasas; proteínas de choque térmico, poli-ADP (adenosina difosfato)-ribosa polimerasa (PARP), factores inducibles por hipoxia (HIF), proteasoma, proteínas de señalización Wnt/Hedgehog/Notch, TNF-alfa, metaloproteinasas de matriz, farnesil transferasa, trayectoria de apoptosis, histona deacetilasas (HDAC),

histona acetiltransferasas (HAT) y la metiltransferasa, terapias hormonales, agente disruptivo vascular, terapia génica, terapia del cáncer de ARNi, agentes quimioprotectores, conjugados de anticuerpos, inmunoterapia contra el cáncer como la interleuquina 2, vacunas contra el cáncer o los anticuerpos monoclonales y preferiblemente agentes que dañan el ADN, anti-metabolitos, inhibidores de topoisomerasa, agentes anti-microtúbulos, inhibidores de EGFR, inhibidores de HER2, inhibidores de VEGFR2, inhibidores de BRAF, inhibidores de Bcr-Abl, inhibidores de PDGFR, inhibidores de ALK, inhibidores de PLK, inhibidores de MET, agentes epigenéticos, inhibidores de HSP90, inhibidores de CHK, inhibidores de aromatasa, antagonistas de receptores de estrógenos y anticuerpos dirigidos contra VEGF, HER2, EGFR, COSO, CD20, CD30, CD33, etc.

En una modalidad preferida de la combinación de la presente invención, el inhibidor de proteasoma, el compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, si está presente, el glucocorticoide están adaptados para administración simultánea, secuencial o por separado. Preferiblemente, el inhibidor de proteasoma, el compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y, si está presente, el glucocorticoide están adaptados para la administración simultánea.

En una modalidad preferida de la combinación de la presente invención, el inhibidor de proteasoma se selecciona de bortezomib, carfilzomib y LU-102 y el compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos es

5



o la sal de acetato del mismo. En una modalidad de esta
 10 combinación, la combinación puede comprender además un
 glucocorticoide en el cual dicho glucocorticoide es dexametasona.

En una modalidad preferida de la combinación de la presente
 invención, la relación molar de inhibidor de proteasoma al compuesto
 de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en
 15 dicha combinación es de 1:1,000 a 1,000:1. Preferiblemente, la
 relación molar de inhibidor de proteasoma al compuesto de la fórmula
 I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en dicha
 combinación es de 1:1,000 a 10:1, más preferiblemente de 1:800 a 1:
 200 o de 1:5 a 1:0.5 y lo más preferiblemente es de 1:700 a 1: 400 o
 20 de 1:3 a 1:0.5, por ejemplo, 1:1,000, 1:900, 1:800. 1:700. 1:600, 1:500,
 1:400, 1:10, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1 o 1:0.5.

Una combinación particularmente preferida de la presente
 invención comprende el compuesto de la fórmula I o la sal de acetato
 del mismo y un inhibidor de proteasoma seleccionado de bortezomib y
 25 carfilzomib, en donde la relación molar del inhibidor de proteasoma

seleccionado de bortezomib y carfilzomib al compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en dicha combinación es de 1:700 a 1:400, por ejemplo, de 1:700, 1:600, 1:500 o 1:400. Otra combinación particularmente preferida del primer
5 aspecto de la presente invención comprende el compuesto de la fórmula I o su sal de acetato y un inhibidor de proteasoma seleccionado de LU-102, en donde la relación molar de LU-102 al compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en dicha combinación es de 1:3 a 1:0.5, por ejemplo 1:3, 1:2,
10 1:1 o 1:0.5.

Se ha encontrado sorprendentemente que las combinaciones que comprenden un inhibidor de proteasoma y un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo son combinaciones sinérgicas. En otras palabras, la potencia de las combinaciones se
15 midió con el software Calculusyn (biosoft, Ferguson, MO, EE.UU.), que se basa en el método de Chou Talay (Chou et al., *Adv. Enzyme Regul.*, 22, 27-55 (1984)), que calcula un índice de combinación (IC) con la siguiente interpretación:

IC $1 > 1$: efecto antagonista, CI = 1: efecto aditivo y CI < 1 efecto
20 sinérgico.

Se encontró en el presente trabajo que para muchas de las combinaciones duales de la invención que comprenden un inhibidor de proteasoma y un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable, se ha encontrado que IC es menor a 1,
25 lo que indica sinergia.

Otra modalidad preferida de la combinación de la presente invención comprende además un glucocorticoide además del inhibidor de proteasoma y el compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde la relación molar de inhibidor de proteasoma al compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo al glucocorticoide en dicha combinación es de 1:1,000:20 a 1,000:1:20. Preferiblemente, la relación molar del inhibidor de proteasoma al compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo al glucocorticoide en dicha combinación es de 1:1,000:10 a 1:100:2. Preferiblemente, la relación molar del inhibidor de proteasoma al compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo al glucocorticoide usado en dicha combinación es de 1:1,000:5 a 1:200:2, más preferiblemente de 1:700:4 a 1:400:3, por ejemplo, 1:1,000:5, 1:900:5, 1:800:4, 1:700:4, 1:600:4, 1:500:3 o 1:400:3.

Una combinación particularmente preferida de la presente invención comprende un inhibidor de proteasoma seleccionado de bortezomib y carfilzomib, un compuesto de la fórmula I o su sal de acetato y dexametasona, en donde la relación molar del inhibidor de proteasoma seleccionado de bortezomib y carfilzomib al compuesto de la fórmula I o su sal de acetato a dexametasona en dicha combinación es de 1:700:4 a 1:400:3, por ejemplo 1:700:4, 1:700:3, 1:600:4, 1:600:3, 1:500:3 o 1:400:3. Otra combinación particularmente preferida del primer aspecto de la presente invención comprende un inhibidor de proteasoma seleccionado de LU-102, el compuesto de la

fórmula I o su sal de acetato y dexametasona, en donde la relación molar de LU-102 al compuesto de la fórmula I o la sal de acetato del mismo a dexametasona en dicha combinación es de 1:3:4 a 1:0.5:3, por ejemplo 1:3:4, 1:3:3, 1:2:4, 1:2:3, 1:1:4, 1:1:3 o 1:0.5:3.

5 También se ha descubierto sorprendentemente que muchas de las combinaciones triples de la presente invención que comprenden un inhibidor de proteasoma, un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un glucocorticoide son también combinaciones sinérgicas, es decir, se ha encontrado que el
10 índice de combinación IC es menor a 1.

La composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto de la presente invención comprende un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable y una combinación de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención. Las composiciones preferidas
15 de la segunda invención incluyen las que comprenden las combinaciones preferidas de la presente invención, tal como se describen y ejemplifican anteriormente. El diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable de la composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto del presente puede ser cualquier
20 dispersante, excipiente, adyuvante u otro material adecuado que actúe como un vehículo para los agentes activos de la combinación de la presente invención y que no interfieren con los agentes activos presentes en dicha combinación. Ejemplos de vehículos y diluyentes farmacéuticamente aceptables típicos se pueden encontrar en
25 "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E. W. Martín y éstos

incluyen agua, solución salina, solución de dextrosa, solución de suero, solución de Ringer, polietilenglicol (por ejemplo, PEG400), un tensioactivo (por ejemplo Cremophor), un ciclopolisacárido (por ejemplo, hidroxipropil- β -ciclodextrina o sulfobutil éter β -ciclodextrinas), un polímero, un liposoma, una micela, una nanosfera, etc.

En el tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un kit que comprende una combinación de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención y, opcionalmente, instrucciones para tratar a un paciente. Típicamente, un kit puede comprender un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un inhibidor de proteasoma y un glucocorticoide junto con instrucciones para tratar a un paciente. Cada agente activo puede proporcionarse en un recipiente adecuado. El kit puede comprender además un sistema de administración, por ejemplo, para el compuesto de la fórmula I o su sal farmacéuticamente aceptable, el inhibidor de proteasoma o el glucocorticoide o cualquier combinación de los mismos.

Las instrucciones pueden aconsejar administrar el inhibidor de proteasoma, el compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, si está presente, el glucocorticoide de la combinación concurrentemente, secuencial o separadamente según variables tales como la condición específica que se trata, el estado de esa condición, la actividad de los compuestos específicos utilizados; la combinación específica utilizada; la edad, el peso corporal, la salud

general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y la velocidad de excreción de los compuestos específicos utilizados; la duración del tratamiento; fármacos usados en combinación o simultáneamente con los compuestos específicos utilizados y factores similares bien conocidos en la medicina. Los kits preferidos de acuerdo con el tercer aspecto de la presente invención incluyen aquellos que comprenden las combinaciones preferidas de la presente invención tal como se describe y ejemplifica anteriormente.

En el cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona la combinación, la composición o kit de acuerdo con el primer, segundo o tercer aspecto de la presente invención para uso en el tratamiento de cáncer.

En el quinto aspecto de la presente invención, se proporciona un método para tratar el cáncer en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente la composición o kit de combinación de acuerdo con el primer, segundo o tercer aspecto de la presente invención.

Se ha encontrado que las combinaciones, composiciones y kits de la presente invención son altamente activos tanto *in vitro* como *in vivo* contra una amplia variedad de tipos de células tumorales. La actividad antitumoral mostrada por estas combinaciones dobles y triples de la presente invención, y por las combinaciones en las composiciones y kits de la presente invención son, en muchos casos, más que meramente aditivos, mostrando índices de combinación IC significativamente menores a 1, indicando sinergia para estas

combinaciones. Este hallazgo sorprendente es un soporte adicional para la eficacia particular de las combinaciones, composiciones y equipos de la presente invención en el tratamiento del cáncer.

Ejemplos de cánceres que son tratables mediante las
5 combinaciones, composiciones y kits de la presente invención incluyen cánceres hematológicos tales como mieloma múltiple, linfoma y leucemia, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, cáncer testicular, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer de vías biliares, cáncer de
10 esófago, tumor estromal gastrointestinal, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer uterino, cáncer renal, melanoma, carcinoma basocelular, carcinoma de células escamosas, cáncer de vejiga, sarcoma, mesotelioma, timoma, síndrome mielodisplásico, glioblastoma y enfermedad mieloproliferativa. En particular, las
15 combinaciones, composiciones y equipos de la presente invención son eficaces contra el cáncer hematológico tal como mieloma múltiple, linfoma y leucemia, y cáncer de mama.

En una modalidad de la combinación, la composición o el ikt para uso en el tratamiento de un cáncer de acuerdo con el cuarto aspecto
20 de la presente invención o el método de tratamiento de acuerdo con el quinto aspecto de la presente invención, el cáncer se selecciona de un cáncer hematológico y cáncer de mama.

Cuando la combinación, composición o kit de la presente invención es para uso en el tratamiento de un cáncer hematológico,
25 este se puede seleccionar preferiblemente a partir de mieloma múltiple

(por ejemplo mieloma activo, plasmacitoma, mieloma de cadena ligera o mieloma no secretor, siendo todas las formas tratables en todas las fases incluyendo las fases recidivante y refractaria), linfoma (por ejemplo, linfoma de Hodgkin o linfoma no Hodgkin) y leucemia
5 [leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda (LMA, incluyendo leucemia monocítica aguda, eritroleucemia aguda y la leucemia megacariótica aguda con todas las formas tratables en todas las fases incluyendo las fases recidivante y refractaria), leucemia
10 mieloide crónica (LMC), leucemia de células pilosas (LCP), leucemia prolinfocítica de células T (T-LP), leucemia linfocítica granular grande o leucemia linfoblástica aguda de células T].

Cuando la combinación, composición o kit de la presente invención es para uso en el tratamiento del cáncer de mama, el cáncer
15 de mama se puede seleccionar típicamente de tumores de claudina baja, tumores de tipo basal, tumores positivos de receptor de factor epidérmico humano 2 (HER2), tumores luminales A y tumores luminales B, y es preferiblemente un cáncer de mama triple negativo.

En una modalidad preferida de la combinación, composición o kit
20 para uso en el tratamiento de cáncer de acuerdo con la presente invención y el método de tratamiento de cáncer de acuerdo con la presente invención, el inhibidor de proteasoma, el compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos y, si está presente, el glucocorticoide, se administran concurrentemente,
25 secuencialmente o por separado. Más preferiblemente, el inhibidor de

proteasoma, el compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, si está presente, el glucocorticoide, se administran concurrentemente.

En la combinación para uso en el tratamiento de cáncer y el
5 método de tratamiento de cáncer de acuerdo con la presente
invención, el compuesto de la fórmula I o una de sus sales
farmacéuticamente aceptables se administra típicamente al paciente
que lo necesite, en un intervalo de dosificación de 10 a 100 mg/kg de
peso corporal del paciente, y preferiblemente a un intervalo de
10 dosificación de 40 a 80 mg/kg de peso corporal del paciente.
Típicamente, el inhibidor de proteasoma se administra al paciente que
lo necesita en un intervalo de dosificación de 0.01 a 0.3 mg/kg de peso
corporal del paciente, más preferiblemente a un intervalo de
dosificación de 0.05 a 0.15 mg/kg de peso corporal del paciente.
15 Cuando se administra también un glucocorticoide en la combinación,
el glucocorticoide se administra típicamente en un intervalo de
dosificación de 0.1 a 1 mg/kg de peso corporal del paciente.
Preferiblemente, se administra en un intervalo de dosificación de 0.3
a 0.5 mg/kg de peso corporal del paciente.

20 La cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación,
composición o kit de acuerdo con la presente invención es una
cantidad de la combinación, composición o kit que confiere un efecto
terapéutico de acuerdo con los aspectos cuarto y quinto de la presente
invención sobre el sujeto tratado, en una relación razonable de
25 beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico. El efecto

terapéutico puede ser objetivo (es decir, medible por alguna prueba o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto da una indicación o siente un efecto). Se cree que una cantidad eficaz de la combinación, composición o kit de acuerdo con la presente invención es una en la

5 cual el compuesto de la fórmula I o una sal del mismo se incluye en la combinación en un intervalo de dosificación de 10 a 100 mg/kg de peso corporal del paciente (por ejemplo 40 a 80 mg/kg de peso corporal tal como 40, 50, 60, 70 o 80 mg/kg de peso corporal), el inhibidor de proteasoma se incluye en un intervalo de dosificación de 0.01 a 0.3

10 mg/kg de peso corporal del paciente (por ejemplo 0.1 a 1 mg/kg tal como 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 o 0.5 mg/kg de peso corporal) y el glucocorticoide se incluye en un intervalo de dosificación de 0.03 a 1 mg/kg de peso corporal (por ejemplo, 0.3 a 0.5 mg/kg de peso corporal del paciente, tal como 0.3, 0.4 o 0.5 mg/kg de peso corporal del

15 paciente).

Las dosis eficaces variarán dependiendo de la vía de administración, así como la posibilidad de uso en conjunto con otros agentes activos. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de las combinaciones, composiciones y kits de la presente invención será

20 decidido por el médico asistente dentro del alcance de un juicio médico acertado. El nivel de dosis terapéuticamente eficaz específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico utilizado; la

25 composición específica utilizado; la edad, el peso corporal, la salud

general, el sexo y la dieta del paciente, el tiempo de administración, la vía de administración y la velocidad de excreción del compuesto específico utilizado; la duración del tratamiento; fármacos utilizados en combinación o simultáneamente con el compuesto específico
5 utilizado y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

La presente invención también se refiere al uso de una combinación, composición o kit de acuerdo con el primer, segundo o tercer aspecto de la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer, por ejemplo, en el
10 tratamiento de un cáncer hematológico o cáncer de mama.

Ejemplos adecuados de la forma de administración de la combinación, composición o kit de la presente invención incluyen, sin limitación, a vía oral, tópica, parenteral, sublingual, vaginal, ocular e intranasal. La administración parenteral incluye inyecciones
15 subcutáneas, Intravenosa, intramuscular, inyección intraesternal o técnicas de infusión. Preferiblemente, las combinaciones, composiciones y kits se administran por vía parenteral. Las combinaciones y composiciones de la invención se pueden formular para permitir que una combinación o composición de la presente
20 invención sea biodisponible tras la administración de la combinación o composición a un animal, preferiblemente humano. Las composiciones pueden tomar la forma de una o más unidades de dosificación. Por ejemplo, un comprimido puede ser una unidad de dosificación única y un recipiente de una combinación o composición
25 de la presente invención en forma de aerosol puede contener una

pluralidad de unidades de dosificación.

Preferiblemente, las combinaciones de la presente invención se proporcionan en forma de kits. Típicamente, un kit incluye un inhibidor de proteasoma, un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y opcionalmente, un glucocorticoide. En ciertas modalidades, un kit puede incluir uno o más sistemas de suministro, por ejemplo, inhibidor de proteasoma, el compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, opcionalmente, un glucocorticoide, o cualquier combinación de los mismos, y direcciones para el uso del kit (por ejemplo, instrucciones para tratar un sujeto). Estas direcciones/instrucciones pueden recomendar la administración del inhibidor de proteasoma, del compuesto de la fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, si está presente, del glucocorticoide de la combinación simultánea, secuencial o separadamente según variables tales como la condición específica que se está tratando, la condición, la actividad de los compuestos específicos utilizados; la combinación específica utilizada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y la velocidad de excreción de los compuestos específicos utilizados; la duración del tratamiento; fármacos usados en combinación o simultáneamente con los compuestos específicos utilizados y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

El diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser particulado, de modo que las composiciones están, por ejemplo, en

forma de tableta o polvo. El (los) soporte(s) puede(n) ser líquido(s), con las combinaciones, composiciones o kits que son, por ejemplo, un jarabe oral o líquido inyectable. Además, el o los vehículos pueden ser gaseosos, con el fin de proporcionar una composición de aerosol útil, por ejemplo, en la administración por inhalación. Tales portadores farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua y aceites. Incluyendo los de origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soya, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los portadores pueden ser solución salina, goma arábica, gelatina, pasta de almidón, talco, queratina, sílice coloidal, urea y similares. Además, se pueden usar agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes, lubricantes y colorantes. En una modalidad, cuando se administra a un animal, la combinación, composición o kit de la presente invención y los vehículos farmacéuticamente aceptables son estériles. El agua es un vehículo preferido cuando la combinación o composición de la presente invención se administra por vía intravenosa. También se pueden utilizar soluciones salinas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los vehículos farmacéuticos adecuados también incluyen excipientes tales como almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, maltosa, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche deslactosada seca, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Las presentes composiciones, si se desea, también pueden contener cantidades

menores de agentes emulsionantes o humectantes, o agentes de regulación de pH.

Cuando se destinan a la administración oral, la combinación, composición o kit puede estar en forma sólida o líquida, donde las
5 formas semisólidas, semilíquidas, de suspensión y gel están incluidas dentro de las formas consideradas aquí como sólidas o líquidas.

Como una composición sólida para la administración oral, la combinación, la composición o el kit se pueden formular en un polvo, gránulo, tableta comprimida, píldora, cápsula, goma de mascar, oblea
10 o forma similar. Dicha composición sólida típicamente contiene uno o más diluyentes inertes. Ya sea como una sola mesa que comprende todos los agentes activos o como un número de composiciones sólidas separadas, cada una de las cuales comprende un solo agente activo de la combinación de la presente invención (en el caso del kit).
15 Además, pueden estar presentes uno o más de los siguientes: aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, etil celulosa, celulosa microcristalina o gelatina; excipientes tales como almidón, lactosa o dextrinas, agentes desintegrantes tales como ácido algínico, alginato de sodio, almidón de maíz y similares; lubricantes tales como
20 estearato de magnesio, deslizantes tales como dióxido de silicio coloidal; agentes edulcorantes tales como sacarosa o sacarina; un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja y un agente colorante.

Cuando la combinación o composición está en forma de cápsula
25 (por ejemplo, una cápsula de gelatina), puede contener, además de

materiales del tipo anterior, un vehículo líquido tal como polietilenglicol, ciclodextrina o un aceite graso.

La combinación, composición o kit puede estar en forma de un líquido, por ejemplo, un elixir, jarabe, solución, emulsión o
5 suspensión. El líquido puede ser útil para la administración oral o para la administración distal por inyección. Cuando es destinado para una administración oral, una combinación, composición o kit puede comprender uno o más de un agente edulcorante, conservantes, colorante y potenciador del sabor. En una administración combinada o
10 de composición por inyección, también se pueden incluir uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, tampón, estabilizador e agente isotónico. En el kit de la presente invención, los componentes líquidos que comprenden uno o más de los agentes activos de la composición se
15 pueden combinar antes de la administración y se pueden administrar simultáneamente o cada agente activo se puede administrar secuencial o por separado.

La vía de administración preferida es la administración parenteral que incluye, pero sin limitarse a la vía intradérmica, intramuscular,
20 intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, intranasal, intracerebral, intraventricular, intratecal, intravaginal o transdérmica. El modo de administración preferido queda a discreción del médico y dependerá en parte del sitio de la afección médica (tal como el sitio del cáncer). En una modalidad más preferida, las
25 presentes combinaciones, composiciones y equipos de la presente

invención se administran por vía intravenosa.

Las combinaciones líquidas, composiciones y kits de la invención, siendo en solución, suspensión u otras formas similares, pueden incluir también uno o más de los siguientes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferiblemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro sódico isotónico, aceites fijos tales como mono o diglicéridos sintéticos, polietilenglicoles, glicerina u otros disolventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabeno a agentes para el ajuste de la tonicidad tal como cloruro sódico o dextrosa. Una combinación o composición parenteral se puede empacar en un frasco ampolla, una jeringa desechable o un vial de dosis múltiples hecho de vidrio, plástico u otro material. La solución salina fisiológica es un adyuvante preferido.

Para la administración (por ejemplo, intravenosa), la combinación, composición o kit puede comprender típicamente el compuesto de fórmula I o una sal del mismo en un intervalo de dosificación de 10 a 100 mg/kg de peso corporal del paciente, el inhibidor del proteasoma en un intervalo de dosificación de 0.01 a 0.3 mg/kg de peso corporal del paciente y el glucocorticoide en un intervalo de dosificación de 0.03 a 1 mg/kg de peso corporal del paciente. Más preferiblemente, la combinación, composición o kit puede comprender típicamente el compuesto de la fórmula I o una sal del mismo en un intervalo de dosificación de 40 a 80 mg/kg de peso corporal del paciente, el inhibidor del proteasoma en un intervalo de dosificación de 0.05 a 0.15

mg/Kg de peso corporal del paciente y el glucocorticoide en un intervalo de dosificación de 0.3 a 0.5 mg/kg de peso corporal del paciente.

Las combinaciones de las invenciones se pueden formular de tal manera que el inhibidor de proteasoma, el compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, si están presentes, el glucocorticoide opcional de la combinación se adapta para administración simultánea, secuencial o por separado. Preferiblemente, se administran simultáneamente.

La combinación, composición o kit de la presente invención se pueden administrar por cualquier vía conveniente, por ejemplo por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos.

En modalidades específicas, puede ser deseable administrar una o más combinaciones, composiciones o kits de la presente invención o combinaciones, composiciones o kits localmente a la zona que necesita tratamiento. En una modalidad, la administración puede ser por inyección directa en el sitio (o sitio anterior) de un cáncer, tumor o tejido neoplásico o pre-neoplásico.

También se puede utilizar la administración pulmonar, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y la formulación con un agente pulverizante, o a través de la perfusión en un fluorocarbono o surfactante pulmonar sintético. En ciertas modalidades, la combinación, composición o kit de la presente invención o composiciones se pueden formular como un supositorio,

con aglutinantes y vehículos tradicionales tales como triglicéridos.

La presente combinación, composición o kit pueden adoptar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, gránulos, cápsulas, cápsulas que contienen líquidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, supositorios, emulsiones, aerosoles, pulverizaciones, suspensiones o cualquier otra forma adecuada para su uso. Otros ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E. W. Martin.

Las combinaciones farmacéuticas, composiciones y kits se pueden preparar utilizando una metodología bien conocida en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, una composición destinada a ser administrada por inyección se puede preparar combinando los componentes de un kit de la presente invención con agua para formar una solución. Se puede agregar un tensioactivo para facilitar la formación de una solución o suspensión homogénea.

Las combinaciones, composiciones y equipos de la presente invención son particularmente eficaces en el tratamiento del cáncer.

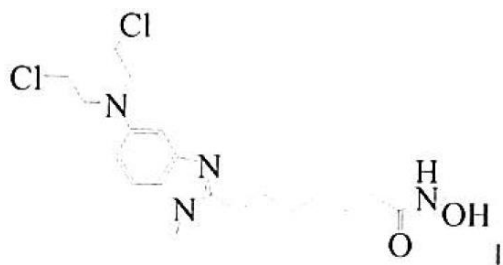
Se ha demostrado que las combinaciones de la presente invención tienen una excelente actividad frente a una amplia variedad de tipos de células tumorales tanto *in vitro* como *in vivo*, haciéndolas particularmente interesantes para el desarrollo para su uso en el tratamiento de cáncer, por ejemplo cáncer hematológico y cáncer de mama.

Asimismo se ha descubierto en el presente trabajo que el

compuesto de la fórmula I o una de sus sales se puede administrar en combinación con radioterapia en el tratamiento del glioblastoma. Tanto los estudios *in vitro* como *in vivo* mostraron que una combinación del compuesto de la fórmula I o una sal del mismo junto con radioterapia era mucho más eficaz que la radioterapia sola. Existe una descripción previa en WO 2013/113838 de datos para el compuesto de la fórmula I probado en líneas celulares CNS (Glioma) SF-268, SF-295, SF-539, SNB-19. SNB-75 y U-251. Estas sugieren actividad para el compuesto de la fórmula I contra el glioblastoma cuando se usa por sí solo.

10 Ejemplos

En los siguientes ejemplos, el compuesto que tiene la siguiente fórmula I se denomina EDO-S101 (o EDO en las figuras):



Ejemplo 1. Combinaciones de EDO-S101 *In vitro* – Líneas celulares MM1S de mieloma múltiple

EDO-S101 se combinaron *in vitro* con bortezomib y dexametasona en la línea celular MM1S de mieloma múltiple amablemente proporcionada por Steven Rosen de Northwestern University, Chicago, IL, EE.UU. La actividad se midió mediante el ensayo MTT que se basa en la reducción del bromuro metabólico a partir de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) que se produce por la enzima

mitocondrial succinato-deshidrogenasa, se volvió un compuesto de color azul llamado formazan. Después se determina la funcionalidad mitocondrial de las células tratadas. Este método se ha utilizado ampliamente para medir la proliferación celular y las capacidades de supervivencia. Las células vivas restantes son proporcionales a la cantidad de formazan producido.

En breve, la metodología fue la siguiente:

- Se sembraron 30,000 células MM1S por pocillo en placas de microtitulación de 96 pocillos.
- Se prepararon diluciones de EDO-S101 y PI en DMSO y dexametasona en etanol y se agregaron a los pocillos a las concentraciones finales indicadas en el experimento.
- Las placas se incubaron durante 24-48-72 horas en la incubadora a 37°C en una atmósfera humidificada en presencia de 5% de CO₂/95% de aire.
- Después de la incubación se agregaron 10 µL de solución de MTT en cada pocillo y se incubaron durante 2 horas para permitir la formación de cristales de formazan.
- Se agregaron 100 µL de una solución de mezcla con SDS más HCl (10 µL de HCl por cada 12 mL de SDS) para disolver los cristales de formazan.
- La absorbancia se leyó a 570 nm OD y se utilizó una longitud de onda de referencia de 650 nm.
- La viabilidad celular (porcentaje) se obtuvo como sigue: % Viabilidad = Células tratadas OD x 100/células de control OD.

• Cada dosis se ensayó por cuadruplicado y cada experimento se realizó al menos dos veces.

Las concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron una relación constante para todos los experimentos. EDO-S101 a 500 nM, 1 µM, 2.5 µM; dexametasona a 2.5 nM; 5 nM; 10 nM y bortezomib a 0.75 nM, 1.5 Nm, 3 nM.

Los resultados son como se muestra en la Tabla 1 a continuación y en la Figura 1.

Tabla 1

10

48 h

IC para valores experimentales

Dexa 48 h
(nM)

EDO 48 h
(nM)

Fa

IC

2.5

500

0.43453

0.851

5

1000

0.56838

0.761

10

2000

0.683802

0.765

IC para valores experimentales

Bortz 48 h
(nM)

EDO 48h
(nM)

Fa

IC

0.75

500

0.247333

1.087

1.5

1000

0.452958

1.230

3

2000

0.918526

0.627

IC para valores experimentales

Dexa 48 h
(nM)

DOBLE
Bortz 48h
(nM)

Fa

IC

2.5

0.75

0.413191

1.105

5

1.5

0.620757

0.879

10

3

0.935984

0.494

20

IC para valores experimentales

Dexa 48 h
(nM)

Bortz 48h
(nM)

EDO 48h
(nM)

Fa

IC

2.5

0.75

150

0.455868

0.958

5

1.5

300

0.673133

0.789

10

3

600

0.962173

0.404

La potencia de la combinación se cuantificó con el software Calcusyn (Biosoft, Ferguson, MO, EE.UU.), que se basa en el método

25

de Chou Talay (Chou et al., *Adv. Enzyme Regul.*, 22, 27-55 (1984)), que calcula un índice de combinación (IC) con la siguiente interpretación:

IC $1 > 1$: efecto antagonista, CI = 1: efecto aditivo y CI < 1 efecto sinérgico.

Se puede ver de la figura 1 y de lo anterior que EDO-S1901 muestra sinergia con bortezomib y también muestra sinergia en una combinación triple con bortezomib y dexametasona.

En un experimento adicional, la misma dosis constante de estos fármacos se incubó por 72 horas en vez de 48 horas. Los resultados se muestran en la Tabla 2 a continuación y en la figura 2.

Tabla 2

72 h					
15	IC para valores experimentales				
	Dexa	EDO	Fa	IC	
	(nM)	(nM)			
	2.5	500	0.576413	0.682	
	5	1000	0.69365	0.836	
	10	2000	0.828332	0.829	
20	IC para valores experimentales				
	Bortz	EDO	Fa	IC	
	(nM)	(nM)			
	0.75	500	0.310537	1.336	
	1.5	1000	0.780181	1.166	
	3	2000	0.999302	0.489	
25	IC para valores experimentales				
	Dexa	Bortz	Fa	IC	
	(nM)	(nM)			
	2.5	0.75	0.411026	1.441	
	5	1.5	0.865318	0.876	
	10	3	1	0.017	
30	IC para valores experimentales				
	Dexa	Bortz	EDO 48h	Fa	IC
	(nM)	(nM)	(nM)		
	2.5	0.75	500	0.607118	1.115
	5	1.5	1000	0.923936	0.845
	10	3	2000	1	0.017

Como se puede ver de nuevo de la figura 2 y los resultados anteriores en la Tabla 2, EDO-S101 muestra sinergia con bortezomib y también muestra sinergia en una combinación triple con bortezomib y dexametasona.

Ejemplo 2. Combinaciones de EDO-S101 en vivo contra un xenoinjerto de plasmacitoma subcutáneo

Se inocularon subcutáneamente ratones CB17-SCID (obtenidos de The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) en el flanco derecho con 3×10^6 células MM1S de mieloma múltiple amablemente proporcionadas por Steven Rosen en Northwestern University, Chicago, IL, EE.UU. en 100 μ L de medio RPMI 1640 y 100 μ L de Matrigel (BD Biosciences). Cuando los tumores se hicieron palpables, los ratones fueron asignados al azar a 8 grupos de tratamiento con 5 ratones en cada uno.

Los grupos fueron:

- Control (grupo tratado con vehículo solo)
- Bortezomib 1mg/kg dos veces por semana intraperitoneal durante tres semanas
- Dexametasona 0.5 mg dos veces por semana por vía intravenosa durante tres semanas
- EDO-S101 por vía intravenosa en dosis de 30 mg/kg una vez por semana en 3 dosis,
- Bortezomib más dexametasona
- Bortezomib más EDO-S101

- EDO-S101 más dexametasona
- Triple combinación de EDO-S101 más bortezomib y dexametasona

Se realizaron mediciones de calibre de los diámetros de los tumores diariamente y se estimó el volumen tumoral como el volumen de una elipse usando la siguiente fórmula: $V = 4/3 \pi \times (a/2) \times (b/2)^2$, donde "a" y "b" corresponden al diámetro más largo y más corto, respectivamente.

Los resultados del crecimiento tumoral son como se muestran en la figura 3 en una gráfica de crecimiento tumoral (mm^3) frente al número de días de estudio). Se puede ver que la combinación de EDO-S101 y bortezomib da como resultado volúmenes de tumor inferiores a los observados con cualquiera de los agentes mientras que la combinación triple de EDO-S101, bortezomib y dexametasona muestra volúmenes de tumores significativamente más bajos al final del estudio que cualquiera de los agentes activos individualmente.

Ejemplo 3. Combinaciones de EDO-S101 *In vitro* – Línea celular RPMI 8226 de mieloma múltiple

Utilizando el mismo procedimiento de ensayo que el descrito en el Ejemplo 1, pero utilizando la línea celular RPMI 8226 de mieloma múltiple (obtenida de DMSZ) en lugar de la línea celular MM1S, las combinaciones de EDO-S101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 fueron probadas para la actividad a su vez. Las concentraciones de los diferentes fármacos fueron constantes para todos los experimentos. EDO-S101 en una concentración de 0, 2, 4, 8 μM ; cada

uno compuestas de bortezomib y carfilzomib a una concentración de 0, 5, 10, 20 nM y LU-102 a una concentración de 0, 1, 3.3, 10 μ M. También se realizaron controles con bendamustina.

Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control sin tratar y los resultados son como se muestra en la figura 4. La figura muestra una sinergia clara para cada una de las tres combinaciones con EDO-S101 *in vitro* contra RPMI 8226 de mieloma múltiple. El IC a 4 μ M EDO-S 101 y 20 nm de carfilzomib fue 0.019 y el IC a 4 μ M EDO-S101 y 3 μ M LU-102 fue 0.109.

10 **Ejemplo 4. Combinaciones de EDO-S101 in vitro – línea celular de mieloma múltiple 2013-10-16 MTS AMO abzb**

Usando el mismo procedimiento de prueba que se describe en el Ejemplo 1, pero utilizando el la línea celular de mieloma múltiple resistente a bortezomib 2013-10-16 MTS AMO abzb (generada en el
15 Departamento de Oncología y Hematología del Kantonsspital St. Gallen por el Prof. Dr. med. C. Driessen) en lugar de la línea celular MM1S, las combinaciones de EDO-S101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 se analizaron para su actividad a su vez. Las concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron una relación constante y fueron
20 0, 2, 4, 8 μ M para EDO-S101; 0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 nM para cada uno de bortezomib y carfilzomib; y 0, 1, 3.3, 10 para LU-102.

Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control sin tratar y los resultados son como se muestra en la figura 5. La figura muestra una sinergia clara para las combinaciones de carfilzomib y
25 LU-102 con EDO-S101 *in vitro* contra el mieloma múltiple resistente al

bortezomib 2013- 10-16 MTS AMO abzb. El IC para las combinaciones de EDO- S101 y carfilzomib contra esta línea celular fue 0.11 y el de EDO-S101 y LU-102 fue de 0.25.

Ejemplo 5. Combinaciones de EDO-S101 in vitro- Línea Celular de Linfoma de Célula del manto 2014- 01-15 MTS Jeko

Utilizando el mismo procedimiento de ensayo que el descrito en el Ejemplo 1, utilizando la línea celular de linfoma de células de manto 2014-01-15 MTS Jeko (obtenida de LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, Francia) en lugar de la línea celular MM1S, las combinaciones de EDO-S101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 se sometieron a prueba de actividad a su vez. Las concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron una relación constante para todos los experimentos e iguales que en el Ejemplo 3.

Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control sin tratar y los resultados son como se muestran en la figura 6. La figura muestra una sinergia clara para cada una de las tres combinaciones con EDO-S101 *in vitro* contra la línea celular de linfoma de células del manto 2014-01-15 MTS Jeko. El IC a 2 μ M de EDO-S101 y 20 nm de bortezomib fue de 0,292; El CI a 2 μ M EDO-S101 y 20 nm de carfilzomib fue 0.206; y el IC a 2 μ M de EDO-S101 y 10 μ M de LU-102 fue 0.204.

Ejemplo 6. Combinaciones de EDO-S101 in vitro – línea celular de linfoma de células de manto 2014-01-15 MTS Granta

Usando el mismo procedimiento de prueba que se describe en el

Ejemplo 1, pero utilizando la línea celular de linfoma de células de manto 2014-01-15 MTS Granta (obtenida de LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, Francia) en lugar de la línea celular MM1S, las combinaciones de EDO-S101 con
5 bortezomib, carfilzomib y LU-102 se probaron para la actividad a su vez. Las concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron relación constante para todos los experimentos e iguales que en el Ejemplo 3.

Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control sin
10 tratar y los resultados son como se muestran en la figura 7. La figura muestra una sinergia clara para cada una de las tres combinaciones con EDO-S101 *in vitro* contra la línea celular de linfoma de células del manto 2014-01-15 MTS Granta. El IC en 1.5 μ M de EDO-S101 y 8 nm de bortezomib fue 0.025, el IC a 0.5 μ M de EDO-S101 y 8 nm de
15 carfilzomib fue 0.089; y el IC a 1 μ M de EDO-S101 y 3 μ M de LU-102 fue 0.078.

Ejemplo 7 Combinaciones de EDO-S101 in vitro – línea celular de cáncer de mama similar al basal MTS MDA-MB468

Utilizando el mismo procedimiento de ensayo que el descrito en
20 el Ejemplo 1, pero utilizando la línea celular de cáncer de mama basal MTS MDA-MB468 (obtenida de LGC Standards S.a.r.l.. 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F - 67123 Molsheim Cedex, Francia) en lugar de la línea celular MM1S, las combinaciones de EDO-S101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 se probaron para la actividad a su vez. Las
25 concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron relación

constante para todos los experimentos y fueron 0, 2, 4, 8 y 16 μM para EDO-S101; 0, 8, 16 y 32 nM para cada uno de bortezomib y carfilzomib; y 0, 1, 3,3 y 10 μM para LU-102.

Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control sin tratar y los resultados son como se muestran en la figura 8. La figura muestra una sinergia clara para cada una de las tres combinaciones con EDO-S101 *in vitro* contra esta línea celular triple de cáncer de mama MTS MDA- MB468.

Ejemplo 8. Combinaciones de EDO-S101 in vitro-línea celular de la leucemia promielocítica HL-60

Utilizando el mismo procedimiento de ensayo que el descrito en el Ejemplo 1, pero utilizando la línea celular de leucemia promielocítica HL-60 (obtenida de LGC Standards S.a.r.l.. 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, Francia) en lugar de líneas celulares MM1S, las combinaciones de EDO-S101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 fueron sometidos a prueba de actividad a su vez. Las concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron relación constante para todos los experimentos y fueron 0, 1, 2 y 4 μM para EDO-S101; 0, 5, 10, 20 nM para bortezomib y carfilzomib; y LU-102 para 0, 1, 3.3, 10 μM .

La viabilidad celular como porcentaje del control sin tratar se procesó y los resultados son como se muestran en la figura 9. La figura muestra una sinergia clara para cada una de las tres combinaciones con EDO-S101 *in vitro* contra la línea de células de leucemia promielocítica HL-60. El IC a 1 μM de EDO-S101 y 20 nm de bortezomib

fue 0.051; el IC a 1 μ M de EDO-S101 y 20 nm de carfilzomib fue 0.073 y el IC a 1 μ M de EDO-S101 y 3 μ M de LU-102 fue 0.387.

Ejemplo 9. Combinaciones de EDO-S101 *in vitro*-línea celular de leucemia mieloide aguda U937

5 Usando el mismo procedimiento de ensayo que el descrito en el Ejemplo 1, pero utilizando la línea celular de leucemia mieloide aguda U937 (obtenida de LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, Francia) en lugar de la línea celular MM1S, se ensayaron las combinaciones de EDO-S 101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 para la actividad a su vez. Las concentraciones
10 para los diferentes fármacos tuvieron relación constante para todos los experimentos y fueron las mismas que en el Ejemplo 8.

Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control no tratado y los resultados son como se muestran en la figura 10. La
15 figura muestra una sinergia clara para cada una de las tres combinaciones con EDO-S101 *in vitro* contra la línea celular U937 de leucemia mieloide aguda basal. El IC a 2 μ M de EDO-S101 y 10 nm de bortezomib fue 0.285; el IC a 2 μ M de EDO-S101 y 10 nm de carfilzomib fue 0.272; y el IC a 2 μ M de EDO-S101 y 3 μ M de LU-102 fue de 0.095.

20 **Ejemplo. 10 Combinaciones de EDO-S101 *in vitro*-línea celular de linfoma de células B BJAB**

Utilizando el mismo procedimiento de ensayo que el descrito en el Ejemplo 1, pero utilizando la línea celular de linfoma de células B BJAB (línea central germinal) (obtenida de LGC Standards S.a.r.l., 6,
25 rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, Francia) en

lugar de la línea celular MM1S. Las combinaciones de EDO S101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 fueron probadas para la actividad a su vez. Las concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron relación constante para todos los experimentos y fueron las mismas
5 que en el Ejemplo 8.

Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control sin tratar y los resultados son como se muestran en la figura 11. La figura muestra una fuerte sinergia para la combinación de EDO-S101 y carfilzomib en particular *in vitro* contra la línea celular de linfoma de
10 células B BJAB (línea central germinal), mientras que la combinación de EDO-S101 y bortezomib también mostró sinergia. El IC para la combinación de EDO-S101 y carfilzomib fue 0.09, mientras que el IC para la combinación de EDO-S101 y bortezomib fue 0.62.

**Ejemplo 11. Combinaciones de EDO-S101 in vitro-línea celular
15 de linfoma de células B OciLy3**

Usando el mismo procedimiento de ensayo que el descrito en el Ejemplo 1, pero utilizando la línea celular de linfoma de células B OciLy3 (tipo ABC) (obtenida de LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076. F-67123 Molsheim Cedex, Francia) en lugar de la
20 línea celular MM1S, las combinaciones de EDO-S101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 se sometieron a prueba de actividad a su vez. Las concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron relación constante para todos los experimentos y fueron 0, 0.5, 1 y 2 μ M para EDO-S101, 0, 5, 10 y 20 nM para bortezomib y carfilzomib y 0, 1, 3,3
25 y 10 μ M para LU-102.

Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control sin tratar y los resultados son como se muestran en la figura 12. La figura muestra una fuerte sinergia para la combinación de EDO-S101 y bortezomib en particular *in vitro* contra la línea celular de linfoma de células B OciLy3 (tipo ABC), mientras que la combinación de EDO-S101 y carfilzomib también mostró sinergia. El IC para la combinación de EDO-S101 y carfilzomib fue 0.59, mientras que el CI para la combinación de EDO-S101 y bortezomib fue 0.21.

Ejemplo 12. Combinaciones de EDO-S101 *in vitro*-línea celular de linfoma de células B TMD8

Utilizando el mismo procedimiento de ensayo que el descrito en el Ejemplo 1, pero utilizando la línea celular de linfoma de células B TMD8 (tipo ABC) (obtenida de LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076. F-67123 Molsheim Cedex, Francia) en lugar de la línea celular MM1S, las combinaciones de EDO-S101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 se probaron para la actividad a su vez. Las concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron relación constante para todos los experimentos y fueron las mismas que en el Ejemplo 11.

Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control sin tratar y los resultados son como se muestran en la figura 13. La figura muestra una fuerte sinergia para todas las combinaciones de EDO-S101 y el inhibidor de proteasoma probado. El IC para la combinación de EDO-S101 y carfilzomib fue 0.17, el CI para la combinación de EDO-S101 y bortezomib fue 0.14 y el CI para la combinación de EDO-S101

y LU-102 fue 0.63.

Ejemplo 13. Combinaciones de EDO-S101 *in vitro* – línea celular de cáncer de mama triple negativo BT-549

5 Utilizando el mismo procedimiento de ensayo que se describe en el Ejemplo 1, pero utilizando la línea celular de cáncer de mama triple negativo BT-549 (obtenida de LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler.BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, Francia} en lugar de la línea celular MM1S, las combinaciones de EDO-S101 con bortezomib, carfilzomib y LU-102 se analizaron para su actividad a su vez. Las concentraciones para los diferentes fármacos tuvieron relación constante para todos los experimentos y fueron 0, 1, 2 y 4 μM para EDO-S101, 0, 5, 10 y 20 nM para cada uno de bortezomib y carfilzomib; y 0, 1, 3.3 y 10 μM para LU-102.

15 Se midió la viabilidad celular como un porcentaje del control sin tratar y los resultados son como se muestran en la figura 14. La figura muestra una sinergia clara para cada una de las tres combinaciones con EDO-S101 *in vitro* contra la línea celular de cáncer de mama triple negativo BT-549. El CI para la combinación de EDO-S101 y bortezomib fue 0.14, el IC para la combinación de EDO-S101 y carfilzomib fue 0.05 y el IC para la combinación de EDO-S101 y LU-102 fue 0.38.

Ejemplo 14 Combinaciones de radioterapia y EDO-S101 frente a líneas celulares de glioblastoma *in vitro*

25 Para la línea celular de glioblastoma U251MG, el IC_{50} se midió siendo 6.60 μM para EDO-S101 (comparado con 30 μM para

bendamustina y 20 para temozolamida).

Para la línea celular de glioblastoma U87G, el IC_{50} se midió siendo 1.36 μM para EDO-S101 (en comparación con 50 μM para bendamustina y 20 para temozolamida}.

- 5 Para la línea celular de glioblastoma T98G, el IC_{50} se midió siendo 7.70 μM para EDO-S101 (en comparación con 52 μM para bendamustina y >100 para temozolamida).

10 Como se puede ver en la figura 15, el porcentaje de supervivencia para las células de glioblastoma se redujo considerablemente cuando se utilizó radioterapia en combinación con una dosis de EDO-S101 (5 μM o 10 μM) en comparación con la radioterapia sola.

Ejemplo 15. Combinaciones de radioterapia y EDO-S101 frente a líneas celulares de glioblastoma *in vivo*

U87MG, U251MG y T98G

- 15 Xenoinjertos inoculados subcutáneamente

Tratamientos y dosis

- *Vehículo* (control)
- *Radioterapia* (2Gy/5 días consecutivos)
- *Temozolamida* (16 mg/Kg durante 5 días consecutivos, po)
- 20 • *Temozolamida + radioterapia*
- *EDO-S101* (60 mg/Kg al día 1, 8 y 15 cada 28 días, iv)
- *EDO-S101 + radioterapia*

25 Se encontró que el tiempo hasta la progresión de los tumores aumentó de aproximadamente 17 a 18 días para el control del modelo de xenoinjerto de ratón U251MG hasta 42 días con una combinación

de radioterapia y temozolamida hasta más de 50 días para EDO-S101 solo (significancia $P = 0.924$) a significativamente más de 50 días para una combinación de EDO-S101 y radioterapia (significación $P = 0.0359$).

- 5 Se encontró que el tiempo hasta la progresión de los tumores aumentó de aproximadamente 15 días para el control del modelo de xenoinjerto de ratón U87MG, a 35 días con una combinación de radioterapia y temozolamida a 40 días para EDO-S101 solo (significancia $P = 2372$) a significativamente más de 50 días para una
10 combinación de EDO-S101 y radioterapia (significancia $P = 0.0001$).

Ejemplo 16. Actividad de EDO-S101 frente a los modelos de mieloma múltiple recurrente/refractario

- Una reordenación genética del locus MYC, que resulta en la expresión desregulada de MYC, es la mutación más común en el
15 mieloma múltiple humano. El modelo de ratón Vk*MYC de ingeniería genética se basa en la desregulación de MYC y ha sido ampliamente validado como un modelo clínicamente y biológicamente fiel de mieloma múltiple no tratado. Nueve fármacos o clases de fármacos (alquiladores de ADN, glucocorticoides, inhibidores del proteasoma,
20 IMiDs, nab-paclitaxel, inhibidores de histona desacetilasa, TACI-Ig, perifosina y SNS-032, un inhibidor de CDK2,7,9) han sido previamente reportados con más de una tasa de respuesta parcial del 20% en Vk * MYC MM. Entre esos. Los primeros cinco también tienen más del 20% de respuesta parcial en pacientes con mieloma múltiple con un valor
25 predictivo positivo del 56%.

EDO-S101 indujo una alta tasa de respuesta en el mieloma múltiple Vk*MYC que se mantuvo durante más de tres meses en ratones que recibieron sólo dos dosis a una semana de diferencia. Sorprendentemente EDO-101 es el único fármaco que se identificó con
5 actividad de agente único en el modelo de trasplante Vk12653, muy agresivo y resistente a múltiples fármacos, de mieloma múltiple recurrente/refractario.

En conclusión, se puede observar que el compuesto de la fórmula I (EDO-S101) muestra una excelente actividad en combinación con
10 inhibidores de proteasoma al actuar tanto *in vitro* como *in vivo* contra una amplia gama de líneas de mieloma, linfoma, leucemia y células de mama. Además, se puede ver que la actividad de muchas de estas combinaciones es sorprendentemente sinérgica y, en muchos casos, tiene un grado muy significativo. Además, se observa en los Ejemplos
15 1 y 2 que las combinaciones triples que comprenden el compuesto de la fórmula I, un inhibidor de proteasoma y un glucocorticoide tal como dexametasona mostraron una sinergia particularmente fuerte.

Como resultado, es de esperar que las combinaciones del compuesto de fórmula I de la presente invención con un inhibidor de
20 proteasoma, que opcionalmente comprende un glucocorticoide, serán de uso en el tratamiento de cáncer, particularmente cánceres hematológicos y cáncer de mama.