

## MÉTODOS PARA TRATAR EL CÁNCER DE PRÓSTATA

### CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con el tratamiento del cáncer de  
5 próstata metastásico sin hormonas en un ser humano al administrar una  
cantidad segura y/o eficaz de niraparib a tal ser humano.

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El cáncer de próstata es la neoplasia maligna no cutánea más común en  
10 hombres y la segunda causa principal de muerte en los hombres por cáncer en el  
mundo occidental. El cáncer de próstata es el resultado del crecimiento  
descontrolado de células anormales en la glándula prostática. Una vez que se  
desarrolla un tumor de cáncer de próstata, los andrógenos, tales como la  
testosterona, promueven el crecimiento del tumor de cáncer de próstata. En sus  
15 primeras etapas, el cáncer de próstata localizado se trata, frecuentemente, con  
terapia local que incluye, por ejemplo, la extirpación quirúrgica de la glándula  
prostática y la radioterapia. Sin embargo, cuando la terapia local no logra curar el  
cáncer de próstata, como ocurre en hasta un tercio de los hombres, la enfermedad  
progresas hacia una enfermedad metastásica incurable (es decir, una enfermedad  
20 en la que el cáncer se ha propagado de una parte del cuerpo a otras partes).

El tratamiento del cáncer de próstata metastásico con terapia de privación  
de andrógenos (“ADT, por sus siglas en inglés”) o terapia de supresión de

andrógenos se realiza para reducir la producción testicular de testosterona. La ADT incluye la castración quirúrgica (orquiectomía) o el uso de antagonistas o agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (“LHRH, por sus siglas en inglés”). Los ejemplos de antagonistas de LHRH incluyen degarelix. Los

5 ejemplos de agonistas de LHRH incluyen acetato de goserelina, acetato de histrelina, acetato de leuprolida y palmoato de triptorelina.

El acetato de abiraterona es un profármaco de la abiraterona, inhibe la 17 $\alpha$  hidroxilasa/C17, 20-liasa (citocromo P450c17 [CYP17]), una enzima clave en la biosíntesis de andrógenos. El acetato de abiraterona en combinación con

10 prednisona se ha aprobado para el tratamiento de hombres con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración (“mCRPC, por sus siglas en inglés”) que han recibido quimioterapia previa con docetaxel. La eficacia y la seguridad de la terapia con acetato de abiraterona (1000 mg de dosis de tableta diaria) y prednisona (5 mg dos veces al día) en pacientes con mCRPC se

15 establecen por los resultados de COU-AA-301 y COU-AA-302, ambos son estudios de Fase 3, multinacionales, aleatorizados, doble ciego, controlados con placebo. El estudio COU-AA-301 fue el primer estudio de Fase 3 que demostró que la reducción adicional de las concentraciones de testosterona por debajo de la alcanzada con la terapia de privación de andrógenos (“ADT”) mediante el uso

20 de la inhibición de CYP17 con acetato de abiraterona mejora la supervivencia en pacientes con mCRPC. COU-AA-302 demostró una supervivencia global (“OS, por sus siglas en inglés”) y una supervivencia libre de progresión radiológica

(“rPFS, por sus siglas en inglés”) significativamente mejoradas en pacientes sin quimioterapia previa con mCRPC tratados con acetato de abiraterona más prednisona en comparación con placebo más prednisona.

Lo que se necesita son datos para determinar si el acetato de abiraterona en

- 5 combinación con prednisona en dosis bajas y ADT es superior a ADT sola en la mejora de rPFS y OS en sujetos con mHNPB con factores pronósticos de alto riesgo.

Por lo tanto, el tratamiento del cáncer de próstata, incluido el cáncer de próstata resistente al castrado y el cáncer de próstata metastásico resistente al castrado, mediante la inhibición de PARP con niraparib en pacientes con

10 mCRPC, incluidos aquellos con anomalías en la reparación del ADN. Este tratamiento puede seguir a la quimioterapia o puede realizarse en un sujeto sin quimioterapia previa. Este tratamiento puede seguir a agentes dirigidos a AR, p. ej., enzalutamida, apalutamida y bicalutamida. Por lo tanto, niraparib puede presentar otra opción de tratamiento.

15

### BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se dirige a un método para tratar el cáncer de próstata en un ser humano que necesita tal tratamiento que comprende, que consiste en, y/o que consiste esencialmente en administrar al ser humano una

20 cantidad terapéuticamente eficaz de niraparib.

En una modalidad, la presente invención se dirige a un método para tratar el cáncer de próstata en un ser humano que necesita tal tratamiento que

comprende, que consiste en, y/o que consiste esencialmente en administrar al ser humano una cantidad terapéuticamente eficaz de niraparib, en donde el cáncer de próstata es cáncer de próstata resistente a la castración (“CRPC, por sus siglas en inglés”), cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, 5 y/o cáncer de próstata resistente a los antiandrógenos.

En otra modalidad, la presente invención se dirige a un método para tratar el cáncer de próstata en un ser humano que necesita tal tratamiento que comprende, que consiste en y/o que consiste esencialmente en administrar niraparib a un ser humano, en donde el ser humano porta al menos una 10 anomalía en la reparación del ADN seleccionada del grupo que consiste en BRCA-1, BRCA-2, FANCA, PALB2, CHEK2, BRIP1, HDAC2 y ATM.

En otra modalidad, la presente invención se dirige a un método para tratar el cáncer de próstata en un ser humano que necesita tal tratamiento que comprende, que consiste en y/o que consiste esencialmente en administrar 15 niraparib a un ser humano, en donde el ser humano porta al menos una anomalía en la reparación del ADN que es BRCA-1 o BRCA-2.

En otra modalidad, la presente invención se dirige a un método para tratar el cáncer de próstata en un ser humano que necesita tal tratamiento que comprende, que consiste en, y/o que consiste esencialmente en administrar 20 niraparib al ser humano en una cantidad, preferentemente, de aproximadamente 30 mg/día a aproximadamente 400 mg/día, con mayor preferencia, 300 mg/día

y, con la máxima preferencia, administración oral una vez al día en tres formas de dosificación oral de 100 mg.

En otra modalidad, la presente invención se dirige a una composición que comprende niraparib para el tratamiento del cáncer de próstata, cáncer de  
5 próstata resistente a los antiandrógenos, cáncer de próstata resistente a la castración y cáncer de próstata metastásico resistente a la castración.

### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Ilustra que niraparib inhibe el crecimiento de líneas celulares  
10 humanas de tumores de próstata in vitro.

Figura 2. Ilustra que niraparib suprime la formación de PAR en dos líneas celulares humanas de tumores de próstata in vitro.

Figura 3. Ilustra que el tratamiento con niraparib induce un aumento de  $\gamma$ -H2AX en células 22RV1 de una manera dependiente de la dosis, como se mide  
15 mediante citometría de flujo.

Figura 4. Ilustra que niraparib induce  $\gamma$ -H2AX en células 22RV1, LNCaP AR-TB y C4-2B in vitro.

Figura 5. Ilustra que el tratamiento con niraparib inhibe el crecimiento de tumores de próstata C4-2B-luc en ratones macho NSG.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El término “sujeto” se refiere a un mamífero, con la máxima preferencia, un ser humano, que ha sido o es el objeto de tratamiento, observación o experimentación.

- 5 El término “tratamiento” se refiere al tratamiento de un sujeto afectado por una afección patológica y se refiere a un efecto que alivia la afección al matar las células cancerosas, pero, además, a un efecto que da como resultado la inhibición del progreso de la afección, e incluye una reducción en la velocidad del progreso, una detención en la velocidad del progreso, la mejora de la
- 10 afección y la curación de la afección. Además, se incluye el tratamiento como medida profiláctica (es decir, profilaxis).

- El término “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad de niraparib que provoca la respuesta biológica o medicinal en un sistema de tejidos que el investigador, veterinario, médico u otro especialista clínico está
- 15 buscando, que incluye el alivio o el alivio parcial de los síntomas de la enfermedad, síndrome, afección o trastorno que se está tratando.

El término “cantidad segura y eficaz” se refiere a una cantidad de niraparib que provoca la prevención o mejora de la progresión de la enfermedad y la toxicidad inaceptable en el ser humano.

- 20 El término “composición” se refiere a un producto farmacéutico que incluye los ingredientes especificados algunas veces en las cantidades terapéuticamente

eficaces, así como cualquier producto que resulta, directa o indirectamente, de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

El término “farmacéuticamente aceptable”, como se usa en la presente descripción, se refiere a compuesto, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen juicio médico, adecuados para usar en contacto con los tejidos de un ser humano sin toxicidad excesiva, irritaciones, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable. Cada portador, excipiente, etc. debe ser “aceptable” en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación.

El término “receptor de andrógenos”, como se usa en la presente descripción, pretende incluir el receptor de andrógenos tipo silvestre, así como los AR resistentes a andrógenos y/o mutantes de AR asociados con cáncer de próstata resistente a la castración.

Como se usa en la presente descripción, el término “antiandrógeno” se refiere a un grupo de compuestos antagonistas del receptor de hormonas que es capaz de prevenir o inhibir los efectos biológicos de los andrógenos en tejidos que normalmente responden en el cuerpo. En algunas modalidades, un antiandrógeno es una molécula pequeña. Los antiandrógenos incluyen enzalutamida, apalutamida y acetato de abiraterona.

Como se usa en la presente descripción, el término “antiandrógeno de primera generación” se refiere a un agente que exhibe actividad antagonista contra un polipéptido de AR silvestre. Sin embargo, los antiandrógenos de

primera generación difieren de los antiandrógenos de segunda generación en que los antiandrógenos de primera generación pueden actuar, potencialmente, como agonistas en CRPC.

Ejemplos de antiandrógenos de primera generación incluyen, pero no se limitan a, flutamida, nilutamida y bicalutamida.

Como se usa en la presente descripción, el término “antiandrógeno de segunda generación” se refiere a un agente que exhibe actividad antagonista completa contra un polipéptido de AR silvestre. Los antiandrógenos de segunda generación difieren de los antiandrógenos de primera generación en que los antiandrógenos de segunda generación actúan como antagonistas completos en células que expresan niveles elevados de AR, tales como, por ejemplo, en CRPC. Ejemplos de antiandrógenos de segunda generación incluyen 4-[7-(6-ciano-5-trifluorometilpiridin-3-il)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaspiro[3.4]oct-5-il]-2-fluoro-N-metilbenzamida (conocido, además, como ARN-509; núm. de CAS 956104-40-8); 4-(3-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)-2-fluoro-N-metilbenzamida (conocido, además, como MDV3100 o enzalutamida; núm. de CAS: 915087-33-1), y RD162 (núm. de CAS 915087-27-3). En algunas modalidades, un antiandrógeno de segunda generación se une a un polipéptido de AR en o cerca del sitio de unión de ligandos del polipéptido de AR.

Como se usa en la presente descripción, el término “antiandrógeno de tercera generación” se refiere a un agente que muestra actividad antagonista completa contra un polipéptido de AR silvestre y contra formas mutantes del

polipéptido de AR, con mutaciones que surgen en el dominio de unión a ligandos (LBD, por sus siglas en inglés) del polipéptido de AR como se expone a continuación. Los antiandrógenos de tercera generación mantienen la diferenciación de los antiandrógenos de primera generación en que los

5 antiandrógenos de tercera generación actúan como antagonistas completos en células que expresan niveles elevados de AR, tales como, por ejemplo, en CRPC.

Como se usa en la presente descripción, el término “mutante” se refiere a un ácido nucleico o polipéptido alterados (en comparación con una referencia), o a una célula u organismo que contienen o que expresan dicho ácido nucleico o

10 polipéptido alterado.

Como se usa en la presente descripción, a menos que se indique de cualquier otra manera, el término “afectar” o “que se afecta” (cuando se refiere a una enfermedad, síndrome, afección o trastorno que se afecta por el antagonismo de AR) incluye una reducción en la frecuencia y/o severidad de

15 uno o más síntomas o manifestaciones de dicha enfermedad, síndrome, afección o trastorno; y/o incluye la prevención del desarrollo de uno o más síntomas o manifestaciones de esa enfermedad, síndrome, afección o trastorno, o del desarrollo de la enfermedad, afección, síndrome o trastorno.

Las modalidades de la presente invención incluyen los profármacos de

20 niraparib. Generalmente, esos profármacos serán derivados funcionales de los compuestos que son fácilmente convertibles *en vivo* en el compuesto necesario. Por lo tanto, en las modalidades de los métodos de tratamiento o prevención de la

presente invención, el término “administrar” abarca el tratamiento o prevención de las diferentes enfermedades, afecciones, síndromes y trastornos descritos con el compuesto específicamente descrito o con un compuesto que puede no ser específicamente descrito, pero que se convierte en el compuesto especificado *en vivo* después de la administración a un paciente. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación derivados de profármacos adecuados se describen, por ejemplo, en “Design of Prodrugs”, ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

#### Receptor de andrógenos (AR)

Los andrógenos se unen a un receptor específico, el receptor de andrógenos (AR, por sus siglas en inglés), dentro de las células de los tejidos diana. El AR se expresa en numerosos tejidos del cuerpo y es el receptor a través del cual se expresan los efectos fisiológicos, así como los efectos fisiopatológicos de los ligandos andrógenos endógenos, tales como la testosterona (T) y la dihidrotestosterona (DHT). Estructuralmente, el AR está compuesto de tres dominios funcionales principales: el dominio de unión a ligandos (LBD), el dominio de unión al ADN y el dominio amino terminal. Un compuesto que se une al AR e imita los efectos de un ligando AR endógeno se denomina agonista de AR, mientras que un compuesto que inhibe los efectos de un ligando AR endógeno se denomina antagonista de AR. La unión del andrógeno al receptor lo activa y hace que se una a los sitios de unión al ADN adyacentes a los genes diana. Desde allí interactúa con proteínas coactivadoras y factores de transcripción básicos para regular la expresión del gen. Por lo tanto, a través de su receptor, los andrógenos causan cambios en la

expresión génica en las células. Estos cambios tienen, básicamente, consecuencias sobre el rendimiento metabólico, la diferenciación o la proliferación de la célula que son visibles en la fisiología del tejido diana. En la próstata, los andrógenos estimulan el crecimiento del tejido prostático y las células de cáncer de próstata al unirse al AR

5 que está presente dentro del citoplasma del tejido sensible a los andrógenos.

Los compuestos que modulan selectivamente el AR son de importancia clínica en el tratamiento o la prevención de una variedad de enfermedades, afecciones y cánceres, que incluyen, pero no se limitan a, cáncer de próstata, hiperplasia prostática benigna, hirsutismo en mujeres, alopecia, anorexia

10 nerviosa, cáncer de mama, acné, afecciones musculoesqueléticas, tales como enfermedad ósea, afecciones hematopoyéticas, enfermedad neuromuscular, enfermedad reumatológica, cáncer, SIDA, caquexia, para la terapia de reemplazo hormonal (HRT, por sus siglas en inglés), que se usa en la anticoncepción masculina, para mejorar el rendimiento masculino, para afecciones reproductivas

15 masculinas, e hipogonadismo masculino primario o secundario.

#### Cáncer de próstata resistente a la castración

Los agentes que bloquean la acción (antiandrógenos) de las hormonas endógenas (p. ej., la testosterona) son altamente eficaces y se usan de manera rutinaria para el tratamiento del cáncer de próstata (terapia de ablación de

20 andrógenos). Aunque inicialmente eficaces para suprimir el crecimiento tumoral, estas terapias de ablación de andrógenos fracasan finalmente en casi todos los casos, lo que conduce a CRPC. La mayoría, pero no la totalidad, de las células de

cáncer de próstata responden inicialmente a la terapia de abstinencia de andrógenos. Sin embargo, con el tiempo, las poblaciones sobrevivientes de células de cáncer de próstata emergen debido a que han respondido a la presión selectiva creada por la terapia de ablación de andrógenos y ahora son refractarias a ella. El cáncer primario no solo es refractario a las terapias disponibles, sino que, además, las células cancerosas pueden desprenderse del tumor primario y desplazarse en el torrente sanguíneo, extendiendo la enfermedad a sitios distantes (especialmente los huesos). Esto se conoce como cáncer de próstata metastásico resistente a la castración (“mCRPC”). Entre otros efectos, esto causa un dolor significativo y una mayor fragilidad ósea en el sujeto.

En algunas modalidades, el cáncer de próstata del sujeto es resistente o no responde al tratamiento con antiandrógenos, que incluye, pero no se limita a, enzalutamida, apalutamida y acetato de abiraterona (“resistencia a los antiandrógenos”).

La preparación de niraparib, 2-[4-[(3S)-piperidin-3-il]fenil]indazol-7-carboxamida, puede encontrarse en la patente de los EE. UU. núm. 8.071.623, publicada el 6 de diciembre de 2011 y titulada Amide Substituted Indazoles as Poly(ADP-Ribose)Polymerase (PARP) Inhibitors, que reivindica el beneficio de la solicitud provisional de patente de los EE. UU. núm. 60/921.310, presentada el 16 de febrero de 2010, así como la patente de los EE. UU. núm. 8.436.185, publicada el 7 de mayo de 2013 y titulada Pharmaceutically Acceptable Salts of 2-[4-[(3S)-piperidin-3-yl]phenyl]-2H-indazole-7-carboxamide, que reivindica el

beneficio de la solicitud provisional de patente de los EE. UU. núm. 61/010.333 presentada el 8 de enero de 2008, cada una de las cuales se incorpora en la presente descripción como referencia.

- La invención proporciona, además, composiciones farmacéuticas que
- 5 comprenden niraparib y un portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como tabletas, comprimidos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires.
- 10 Las composiciones previstas para uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar
- 15 preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Las tabletas contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de tabletas. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de
- 20 granulación y desintegración, por ejemplo, celulosa microcristalina, croscarmelosa de sodio, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina, polivinilpirrolidona o acacia, y agentes

lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas pueden estar no revestidas o pueden revestirse mediante técnicas conocidas para enmascarar el sabor desagradable del fármaco o retardar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, de esta manera, proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede usarse un material enmascarador de sabor soluble en agua, tal como hidroxipropilmetilcelulosa o hidroxipropilcelulosa, o un material de tiempo de retardo, tal como etilcelulosa, acetato butirato de celulosa.

Las formulaciones para uso oral pueden presentarse, además, como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo se mezcla con un portador soluble en agua, tal como polietilenglicol, o un medio de aceite, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Las suspensiones acuosas contienen el material activo en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia; los agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfátido de origen natural, por ejemplo, lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo, estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena

larga, por ejemplo, heptadecaetilenoxicetanal, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol, tal como polioxietileno sorbitol monooleato, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietileno sorbitán. Las suspensiones acuosas pueden contener, además, uno o más conservantes, por ejemplo, etilo, o n-propil-p-hidroxibenzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa, sacarina o aspartamo.

Las suspensiones aceitosas pueden formularse al suspender el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de cacahuate, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en aceite mineral, tal como parafina líquida. Las suspensiones aceitosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes, tales como los descritos anteriormente, y los agentes saborizantes pueden añadirse para proporcionar una preparación oral sabrosa. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante, tal como hidroxianisol butilado o alfa-tocoferol.

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados se ejemplifican por los ya mencionados anteriormente.

Además, pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante, tal como ácido ascórbico.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar, además,  
5 en forma de una emulsión aceite en agua. La fase aceitosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo, parafina líquida, o mezclas de estos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser fosfátidos de origen natural, por ejemplo, lecitina de frijol de soya, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos  
10 de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán. Las emulsiones pueden contener, además, edulcorantes, agentes saborizantes, conservantes y antioxidantes.

Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes, por  
15 ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones pueden contener, además, un demulcente, un conservante, agentes saborizantes y colorantes, y antioxidante. Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una solución acuosa inyectable estéril. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden usarse se encuentran el agua, la solución de Ringer y la  
20 solución isotónica de cloruro de sodio.

La preparación inyectable estéril puede ser, además, una microemulsión aceite en agua inyectable estéril donde el ingrediente activo se disuelve en la fase

aceitosa. Por ejemplo, el ingrediente activo puede disolverse primero en una mezcla de aceite de frijol de soya y lecitina. Después, la solución de aceite se introdujo en una mezcla de agua y glicerol y se procesó para formar una microemulsión.

Las soluciones o microemulsiones inyectables pueden introducirse en el  
5 torrente sanguíneo de un paciente mediante inyección en bolo local.

Alternativamente, puede ser favorable administrar la solución o microemulsión de tal manera que se mantenga una concentración en circulación constante del compuesto instantáneo. Para mantener tal concentración constante, puede usarse un dispositivo de suministro intravenoso continuo. Un ejemplo de tal  
10 dispositivo es la bomba intravenosa Deltec CADD-PLUS™ modelo 5400.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión acuosa u oleaginosas inyectables estériles para la administración intramuscular y subcutánea. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida mediante el uso de aquellos agentes dispersantes o  
15 humectantes y agentes de suspensión adecuados que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser, además, una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Además, los aceites fijos estériles se usan, convencionalmente, como un solvente  
20 o medio de suspensión. Para este propósito, puede usarse cualquier aceite fijo insípido que incluye mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

Niraparib puede administrarse, además, en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse al mezclar el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que sea sólido a temperaturas normales, pero que sea líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen manteca de cacao, gelatina glicerizada, aceites vegetales hidrogenados, mezclas de polietilenglicoles de diversos pesos moleculares y ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol.

Para uso tópico, se usan cremas, ungüentos, jaleas, soluciones o suspensiones, etc., que contienen los compuestos instantáneos. (Para los propósitos de esta solicitud, la aplicación tópica incluirá enjuagues bucales y gárgaras.)

Niraparib puede administrarse en forma intranasal mediante el uso tópico de vehículos intranasales y dispositivos de suministro adecuados, o mediante vías transdérmicas, mediante el uso de las formas de parches cutáneos transdérmicos bien conocidos para los expertos en la técnica. Para administrarse en la forma de un sistema de suministro transdérmico, la administración de la dosis será, evidentemente, continua y no intermitente durante todo el régimen de dosificación. Niraparib puede administrarse, además, como un supositorio que usa bases tales como manteca de cacao, gelatina glicerizada, aceites vegetales hidrogenados, mezclas de polietilenglicoles de diversos pesos moleculares y ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol.

Cuando niraparib se administra a un sujeto, el nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen, pero no se limitan a, la actividad del compuesto particular, la gravedad de los síntomas del individuo, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación, y la edad, sexo, peso, condición, salud general e historial médico previo del paciente. La cantidad de niraparib y la vía de administración serán, finalmente, a criterio del médico, aunque, generalmente, la dosis será para lograr concentraciones locales en el sitio de acción que logren el efecto deseado sin causar efectos secundarios nocivos o perjudiciales sustanciales.

La administración in vivo puede efectuarse en una dosis, de manera continua o intermitente (p. ej., en dosis divididas a intervalos apropiados) a lo largo del transcurso del tratamiento. Los métodos para determinar los medios más eficaces y la dosificación de administración son bien conocidos para los expertos en la técnica y variarán con la formulación usada para la terapia, el propósito de la terapia, la célula diana que se trata y el sujeto que se trata. Las administraciones únicas o múltiples pueden realizarse con el patrón y el nivel de dosis seleccionados por el médico tratante.

Generalmente, una dosis adecuada de niraparib está en el intervalo de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 250 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto por día. Cuando el compuesto activo es una sal, un éster, un profármaco o lo similar, la cantidad administrada se calcula sobre la base del

compuesto original y, de esta manera, el peso real que se usará se incrementa proporcionalmente.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de niraparib o una composición farmacéutica de este para el tratamiento del cáncer de próstata incluye un  
5 intervalo de dosis de aproximadamente 30 mg/día a aproximadamente 400 mg/día de niraparib, o cualquier cantidad o intervalo particular en él, en particular aproximadamente 300 mg/día, y administración oral una vez al día en tres formas de dosificación oral de 100 mg.

Las dosificaciones óptimas de niraparib que se administrarán pueden  
10 determinarse fácilmente y variarán con el compuesto particular usado, el modo de administración, la fuerza de la preparación y el avance de la enfermedad, síndrome, afección o trastorno. Además, los factores asociados con el sujeto particular que se va a tratar, que incluyen: género, edad, peso, dieta y tiempo de administración, resultará en la necesidad de ajustar la dosis para alcanzar un nivel  
15 terapéutico adecuado y el efecto terapéutico deseado. Por lo tanto, las dosificaciones anteriores ilustran el caso promedio. Pueden existir, por supuesto, casos individuales en donde se ameritan intervalos de dosificaciones mayores o menores y estos se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

Niraparib puede administrarse en cualquiera de las composiciones  
20 anteriores y regímenes de dosificación o por medio de aquellas composiciones y regímenes de dosificación establecidos en la técnica cada vez que se requiera el uso para un sujeto que lo necesita.

## EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se describen para ayudar a comprender la invención y no pretenden ni deben interpretarse de ninguna manera como limitantes de la invención que se describe en las reivindicaciones que siguen más adelante.

### 5 **Ejemplo 1**

#### **Citotoxicidad in vitro de niraparib en líneas humanas de tumores de próstata**

La citotoxicidad de niraparib se probó en varias líneas humanas de tumores de próstata in vitro. Ninguna de las líneas de tumores se conoce por ser  
10 deficiente para BRCA-1 o BRCA-2.

Métodos:

La citotoxicidad in vitro de niraparib se evaluó en 5 líneas celulares humanas de cáncer de próstata: C4-2B, LNCaP, LNCaP AR.TB, VCaP y 22Rv1. Las líneas celulares C4-2B, LNCaP, LNCaP AR.TB y 22Rv1 se cultivaron en  
15 medio RPMI1640+GlutaMAX™-I (Life Technologies núm. 61870-036) suplementado con suero bovino fetal (FBS, por sus siglas en inglés) inactivado por calor al 10 % (Life Technologies núm. 16140-071) y aminoácidos no esenciales (NEAA, por sus siglas en inglés) (Life Technologies núm. 11140-050); y las células VCaP se cultivaron en medio DMEM+GlutaMAX™-I (Life  
20 Technologies núm. 10569-010) con FBS al 10 % y NEAA. Las células VCaP se subcultivaron cada 7 días; las otras líneas se dividieron cada 3-4 días.

La cinética del crecimiento celular de cada línea celular se determinó al sembrar las células a varias densidades y al monitorear el crecimiento a intervalos de hasta 7 días. El crecimiento se determinó mediante el uso del reactivo Promega Cell TiterGlo (núm. G7571) para medir el ATP celular por medio de una reacción de luciferina-luciferasa quimioluminiscente. Las placas se leyeron en un lector de placas Perkin-Elmer Envision, y los valores de luminiscencia se representaron para identificar las densidades de siembra que dieron como resultado un crecimiento de fase log y una densidad celular dentro del intervalo lineal del ensayo Cell TiterGlo en el punto de tiempo deseado.

Para los experimentos de citotoxicidad de niraparib, las células se recolectaron mediante tripsinización breve y cada línea se sembró en los 60 pocillos internos de las placas de 96 pocillos en 100 µl de medio a una densidad apropiada para un tratamiento de 7 días. Los pocillos externos de cada placa se llenaron con solución salina regulada con fosfato de Dulbecco (DPBS; Life Technologies núm. 14190-144) para reducir la evaporación de los pocillos de prueba. Las células se dejaron reposar durante la noche en las placas a 37 °C en una incubadora humidificada con CO<sub>2</sub> al 5 %. El tratamiento se inició mediante la adición de 50 µl de 3X niraparib (concentraciones finales de 500, 125, 31,3, 7,8, 1,95, 0,49, 0,12, 0,03 µM) en el medio apropiado a los pocillos triplicados. La concentración final del vehículo fue DMSO al 0,5 %.

Las células se cultivaron durante 7 días. La viabilidad celular relativa después del tratamiento se determinó mediante el uso del reactivo Cell TiterGlo,

como se describió anteriormente. Todos los valores de salida luminiscentes se normalizaron al porcentaje de inhibición basado en la luminiscencia media de los pocillos de control no tratados, y el porcentaje medio de inhibición de los pocillos de control del vehículo se restó de cada valor de tratamiento. El porcentaje de

5 inhibición se representó vs. la concentración de  $\mu\text{M}$  log en GraphPad Prism 7.00.

La regresión no lineal y el cálculo de los valores  $\text{EC}_{50}$  se realizaron mediante el uso de log(agonista) vs. respuesta -- Ajuste de pendiente variable (cuatro parámetros).

Resultados:

Los resultados del ensayo de citotoxicidad se muestran en la Figura 1 y la  
 10 Tabla 1. El crecimiento de cada línea celular se redujo de una manera dependiente de la dosis al aumentar las concentraciones de niraparib. Las células C4-2B parecieron ser las más sensibles, con un valor  $\text{EC}_{50}$  de  $\sim 1,2 \mu\text{M}$ . Las células VCaP parecieron ser las menos sensibles, con un valor  $\text{EC}_{50}$  de  $4,1 \mu\text{M}$ .

15

| Línea celular | $\text{EC}_{50}$ , $\mu\text{M}$ |
|---------------|----------------------------------|
| C4-2B         | 1,222                            |
| LNCaP         | 3,502                            |
| LNCaP AR.TB   | 2,140                            |
| VCaP          | 4,099                            |
| 22Rv1         | 3,517                            |

20 **Tabla 1. Valores  $\text{EC}_{50}$  para el tratamiento con niraparib de 7 días de líneas celulares humanas de tumores de próstata.**

## Ejemplo 2

### Inhibición de la formación de PAR mediante niraparib

La capacidad de niraparib para inhibir la formación de poli(ADP)ribosa (PAR) se probó en dos líneas humanas de tumores de próstata in vitro. Ninguna  
5 de las líneas de tumores se conoce por ser deficiente para BRCA-1 o BRCA-2.

Métodos:

La inhibición de PAR mediante el uso de niraparib se evaluó en 2 líneas celulares humanas de cáncer de próstata, C4-2B y VCaP. La línea celular C4-2B se cultivó en medio RPMI1640+GlutaMAX™-I suplementado con FBS al 10 % y NEAA,  
10 y se dividió cada 3-4 días. Las células VCaP se cultivaron en medio DMEM+GlutaMAX™-I con FBS y NEAA, y se subcultivaron cada 7 días.

Las células se recolectaron mediante tripsinización breve y cada línea se sembró en placas de 6 pocillos en 1 ml de medio a una densidad apropiada. Se añadió 500 µl adicionales de medio completo, para un volumen total por pocillo  
15 de 1,5 ml. Las células se dejaron reposar durante la noche en las placas a 37 °C en una incubadora humidificada con CO<sub>2</sub> al 5 %. Al día siguiente, el medio se retiró de las placas y las células se lavaron mediante el uso de 1 ml de medio libre de suero (RPMI o DMEM, respectivamente). El tratamiento se inició mediante la adición de 1 ml de niraparib (concentraciones finales de 100, 10, 1,  
20 0,1, 0,01 y 0 µM en DMSO al 0,1 %) en el medio apropiado a los pocillos triplicados. Las placas se regresaron a la incubadora durante dos horas.

Después del tratamiento, se prepararon extractos mediante el uso de reactivos y procedimientos proporcionados en el Ensayo Farmacodinámico II in vivo HT PARP (Trevigen núm. 4520-096-K). El medio se retiró de cada pocillo y se colocó en tubos de microcentrífuga marcados separados, y las placas se

5 colocaron en hielo. Los tubos se centrifugaron a 1500 rpm durante 4 minutos para sedimentar las células que se separaron de la placa durante la incubación del fármaco. El regulador de lisis se preparó mediante el uso de 24,5 ml de reactivo de lisis celular con 250 µl de PMSF 100 mM (en etanol; Sigma núm. 93482) y 250 µl de cóctel inhibidor de proteasa 100X (Thermo Scientific núm.

10 78429). El regulador de lisis (300 µl) se añadió a cada pocillo de las placas, en hielo. Las células adherentes se rasparon en regulador de lisis y se mantuvieron en hielo durante al menos 15 minutos. El sobrenadante se retiró de los tubos de microcentrífuga y los lisados celulares de las placas de 6 pocillos se añadieron a cada tubo de los tubos correspondientes. Se añadió SDS (20 % p/v) para llevar

15 la concentración final de SDS a 1 %. Los extractos celulares se calentaron hasta 95-100 °C durante 5 minutos. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, se añadió 0,01 volúmenes de catión de magnesio 100X y 3 µl de DNasa a cada tubo. Los tubos se agitaron brevemente en vórtex y se regresaron a una

20 incubadora a 37 °C durante 90 minutos. Después de la incubación, los tubos se centrifugaron a 10.000 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Si estaba presente un sedimento, este se retiró mediante el uso de una punta de pipeta y los extractos se transfirieron a una placa de dilución de 96 pocillos. Los

extractos celulares se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta que se usaron para la cuantificación de proteínas y el ensayo ELISA de PAR. El protocolo del ensayo ELISA se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

La cuantificación de proteínas se realizó mediante el uso del kit de ensayo de proteínas II Biorad DC compatible con detergente (núm. 500-0002) con el conjunto estándar de albúmina sérica bovina Biorad Quick Start (núm. 5000207) de acuerdo con el protocolo del fabricante de la placa de 96 pocillos. El regulador de lisis ELISA se enriqueció en los estándares, y un volumen igual de PBS se añadió a todos los pocillos de muestra para corregir cualquier efecto del regulador de lisis en las lecturas de proteínas. Las muestras se analizaron por duplicado. Se añadió regulador A' (25  $\mu\text{l}$ ) a todos los pocillos de la placa, y se añadió inmediatamente 200  $\mu\text{l}$  de regulador B a cada pocillo. Las placas se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente en un agitador. La absorbancia se leyó a 750 nm en un lector de placas M5 Molecular Devices, mediante el uso del protocolo de ensayo de proteínas DC en el software SoftMax Pro versión 6.3. La regresión lineal de la curva estándar, la interpolación de los valores de proteína de muestra y el promedio de réplica se realizaron en el software. Los datos se exportaron a Excel, donde se realizaron correcciones para determinar la dilución de la muestra.

Los valores de luminiscencia de las muestras y los estándares ELISA de PAR se analizaron en GraphPad Prism versión 7, donde se calcularon la regresión lineal de la curva estándar y la interpolación de los valores de las muestras. Los valores de PAR interpolados (pg PAR/ml) se corrigieron para determinar la dilución de la

muestra y se dividieron por la concentración de proteína correspondiente para producir pg PAR/mg de proteína. Estos valores se graficaron en GraphPad Prism v7.

Resultados:

Los resultados del ensayo de PAR se muestran en la Figura 2. PAR se redujo de una manera dependiente de la dosis al aumentar las concentraciones de niraparib en cada línea celular.

### **Ejemplo 3**

#### **Niraparib induce $\gamma$ -H2AX en líneas humanas de tumores de próstata in vitro**

La capacidad de niraparib para inducir roturas bicatenarias en el ADN se midió en 3 líneas celulares humanas de cáncer de próstata 22RV1, LNCaP AR.TB y C4-2B. Las roturas bicatenarias en el ADN son seguidas por la fosforilación de la histona adyacente  $\pm$ -H2AX, y esta fosforilación puede medirse mediante tinción de anticuerpos y citometría de flujo.

Métodos:

Las líneas celulares 22RV1, LNCaP AR.TB y C4-2B se cultivaron como se describió anteriormente. Las líneas celulares se pasaron por tubos cada 3-4 días.

Para cada línea celular,  $2 \times 10^5$  células se sembraron en cada pocillo de una placa de 12 pocillos (Falcon núm. 353043) en un volumen de 1 ml de medios. Las células se dejaron reposar durante la noche en una incubadora a 37 °C humidificada con CO<sub>2</sub> al 5 %, después, se añadió 1 ml de medios que contenían 2X niraparib concentrado diluido en serie para lograr concentraciones

finales de 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,57, 0,78, 0,39, 0,2 y 0,1  $\mu\text{M}$  en los pocillos triplicados. La concentración final del vehículo fue DMSO al 0,2 % y, además, se obtuvieron pocillos triplicados de controles de medios y vehículo para cada línea celular. Las placas se incubaron durante otras 18 horas.

- 5            Después de la incubación de 18 horas con el fármaco, cada pocillo de células se recolectó al transferir primero los 2 ml de medios a un tubo cónico de 15 ml (Corning núm. 430798). Después, se añadió 500  $\mu\text{l}$  de regulador de disociación celular (Gibco núm. 13151-014) al pocillo y se dejó reposar durante 5 minutos. Mediante el uso de una pipeta de 1 ml, se añadió 1 ml de medios al
- 10 pocillo, las células se desprendieron mediante pipeteo y los medios que contenían células se transfirieron al tubo cónico de 15 ml correspondiente. Los tubos se centrifugaron a 1200 rpm durante 5 minutos, el sobrenadante se desechó, y las células sedimentadas se resuspendieron y transfirieron a una placa con fondo en V de 96 pocillos (Costar núm. 3896). Las placas se centrifugaron a 1800 rpm
- 15 durante 3 minutos, el sobrenadante se desechó, después, los pocillos se lavaron con 200  $\mu\text{l}$  de DPBS. Este proceso se repitió por un total de 3 lavados. Después, las células se tiñeron con 100  $\mu\text{l}$  de DPBS que contenía una dilución 1:800 de Invitrogen Live/Dead fixable aqua (Invitrogen núm. L34957) durante 20 minutos a 4 °C. Después, las células se lavaron con 150  $\mu\text{l}$  de regulador de tinción BD
- 20 Pharmingen (regulador de tinción; BD núm. 554657) y se centrifugaron a 1800 rpm durante 3 minutos. Las células se lavaron nuevamente 2 veces con 200  $\mu\text{l}$  de regulador de tinción y, después, una vez con DPBS.

Las células se fijaron con 100 µl de etanol al 70 % a -20 °C/H<sub>2</sub>O y las placas se almacenaron a -20 °C durante 2 horas. Las células se lavaron 3 veces con regulador de tinción centrifugando a 2200 rpm durante 3 minutos entre cada lavado. Después, las células se incubaron con 100 µl de una dilución 1:1 de regulador de tinción y bloqueador del receptor Fc libre de biotina AXELL (Accurate Chemical & Scientific Corp núm. NB309) durante 20 minutos a 4 °C. Las células se lavaron con 150 µl de regulador de tinción, después, se centrifugaron a 2200 rpm durante 3 minutos, el sobrenadante se desechó, después, las células se incubaron con 50 µl de regulador de tinción que contenía 0,2 % v/v de Triton X-100 (Acros Organics núm. 21568-2500) durante 2 horas a temperatura ambiente en la oscuridad junto con diluciones 1:100 de anticuerpo γ-H2AX (Biolegend núm. 613408).

Las células se lavaron una vez con 200 µl de regulador de tinción que contenía 0,2 % v/v de Triton X-100 y, después, se lavaron una vez con 200 µl de regulador de tinción solo. Las células se resuspendieron en 80 µl de regulador de tinción y se analizó 50 µl en un citómetro de flujo BD Fortessa. Los datos se analizaron mediante el uso de TreeStar FlowJo v9.8.5. Los datos se clasificaron en células vivas, después, siguiendo la discriminación por doblete, toda la población se evaluó para determinar la señal del anticuerpo γ-H2AX. Los resultados se graficaron en GraphPad Prism v7.

## Resultados:

Los histogramas representativos para la línea celular 22RV1 se muestran en la Figura 3, que ilustra el efecto de diferentes concentraciones de niraparib. Las

muestras tratadas con el fármaco se compararon con los controles de medios y vehículo y se muestran gráficamente en la Figura 4. Las concentraciones más bajas donde la señal de  $\gamma$ -H2AX aumenta significativamente por encima del control de vehículo se indican en la Tabla 2. Los resultados muestran que, en cada línea de tumor de próstata, niraparib induce  $\gamma$ -H2AX de una manera dependiente de la dosis.

| Línea celular | 1. <sup>a</sup> concentración significativa ( $\mu$ M) |
|---------------|--------------------------------------------------------|
| 22RV1         | 1,57                                                   |
| LnCaP.AR.TB   | 3,13                                                   |
| C4-2B         | 1,57                                                   |

**Tabla 2. Concentración mínima de niraparib que induce un cambio significativo en  $\gamma$ -H2AX**

#### **Ejemplo 4**

Niraparib inhibe el crecimiento de tumores de próstata humana C4-2B en ratones

La actividad de niraparib se probó en el modelo C4-2B subcutáneo de próstata humana preestablecido en ratones diabéticos no obesos (NOD, por sus siglas en inglés) inmunodeficientes combinados severos (scid, por sus siglas en inglés) gamma (NOD.Cg-Prkdc Il2rg/SzJ) (NSG, por sus siglas en inglés). No se cree que este modelo de tumor sea deficiente para BRCA-1 o BRCA-2.

#### **Métodos:**

El vehículo era metilcelulosa al 0,5 % (Methocel™ F4M) que se preparó y se mantuvo a 4 °C en la oscuridad. Todas las formulaciones se elaboraron para

dosificarlas a un volumen de 10 ml/kg de peso corporal. Se usaron ratones macho NSG (Jackson Laboratories). Los animales se habituaron durante una semana antes de realizar cualquier procedimiento experimental. Los ratones se alojaron en grupo (5 por jaula) en jaulas de IVC desechables (Innovive, San Diego, CA, EE.

- 5 UU.) bajo un ciclo de 12 h de luz: oscuridad a una temperatura de 19 a 22 °C y 35 a 40 % de humedad. Los ratones se alimentaron con una comida de laboratorio como dieta de alto contenido en grasa con autoclave (6 %) y agua ad libitum.

- Los ratones se inyectaron con células marcadas con LNCaP C4-2B-luc ( $1 \times 10^6$  células tumorales en un volumen de 200  $\mu$ l de medio Cultrex®:RPMI 1640 (relación 1:1) en el lado derecho. Los ratones se asignaron de manera aleatoria por volúmenes tumorales (volumen tumoral =  $241 \pm 14$  mm<sup>3</sup>), con 10 ratones por grupo de tratamiento. Los ratones se dosificaron diariamente por sonda nasogástrica (p.o.) con ya sea vehículo, o vehículo que contenía niraparib como se indica más abajo a un volumen de dosificación de 10 ml/kg. Inicio del
- 15 tratamiento = Día 1. Los ratones se trataron hasta el día 24 del estudio.

- |    |         |                                                                   |
|----|---------|-------------------------------------------------------------------|
|    | Grupo 1 | 0 mg/kg de vehículo (0,5 % de Methocel F4M) dosificado QD p.o.    |
|    | Grupo 2 | 25 mg/kg de niraparib en 0,5 % de Methocel F4M dosificado QD p.o. |
| 20 | Grupo 3 | 50 mg/kg de niraparib en 0,5 % de Methocel F4M dosificado QD p.o. |

Para cada animal individual, el peso corporal y el volumen tumoral [mediante el uso de la fórmula: Volumen tumoral (mm<sup>3</sup>) = (a x b<sup>2</sup>/2); donde 'a' representa la longitud y 'b' el ancho del tumor como se determina mediante las mediciones del calibre], se monitorearon dos veces por semana durante todo el estudio. Para los tumores preestablecidos, una evolución temporal del crecimiento tumoral se expresa como media ± error estándar de la media (SEM, por sus siglas en inglés).

#### Resultados:

Los ratones tratados con vehículo comenzaron a alcanzar límites éticos para el volumen tumoral alrededor del día 22 del estudio en adelante (ver la Figura 5 para volúmenes tumorales individuales). Los datos del volumen tumoral se presentaron hasta el día 24 del estudio (cuando 9 de los 10 ratones tratados con vehículo permanecían en estudio). Después de 18, 22 y 24 días de tratamiento, el grupo 3 dosificado diariamente con 50 mg/kg de niraparib p.o. mostró inhibición/retardo significativo en el crecimiento tumoral, con valores de inhibición del crecimiento tumoral (TGI, por sus siglas en inglés) de ~40 % en estos días. Se observaron diferencias significativas en el crecimiento tumoral en los días 18, 22 y 24 (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001). Los ratones dosificados a 25 mg/kg de niraparib no mostraron ninguna inhibición del crecimiento tumoral significativa, aunque hubo una TGI modesta de ~12 % en los días 22 y 24.

#### 20 Ejemplo 5

Un estudio multicéntrico de etiqueta abierta se realizó para evaluar la eficacia y seguridad de la dosificación una vez al día de 300 mg de niraparib en

sujetos masculinos mayores de 18 años con mCRPC y anomalías en la reparación del ADN que han recibido al menos una línea de quimioterapia basada en taxanos y al menos una línea de terapia antiandrógena (p. ej., acetato de abiraterona, enzalutamida, apalutamida). El estudio incluirá aproximadamente 100  
5 sujetos. Los sujetos se monitorearán por seguridad durante el período de estudio y hasta 30 días después de la última dosis del fármaco de estudio. El tratamiento continuará hasta que la progresión de la enfermedad, la toxicidad inaceptable, la muerte o el patrocinador finalice el estudio.

El estudio consistirá en 4 fases; una Fase de preselección solo para la  
10 evaluación de biomarcadores, una Fase de selección, una Fase de tratamiento y una Fase de seguimiento. Las evaluaciones de eficacia incluyen lo siguiente:  
Mediciones de los tumores: tomografías CT o MRI del tórax, abdomen y pelvis, y tomografías óseas de todo el cuerpo ( $^{99m}\text{Tc}$ ), PSA sérico, estado de supervivencia, CTC y evento esquelético sintomático (SSE, por sus siglas en inglés).

15 Niraparib, 300 mg, se proporcionará como cápsulas (3 x 100 mg) para la administración oral una vez al día. Las cápsulas deben ingerirse enteras. Los sujetos deben tomar su dosis en la mañana (con o sin alimentos). Aunque no se considera la medicación del estudio, los sujetos que no se han sometido a castración quirúrgica deben continuar con la administración regular de GnRHa  
20 recetado. Todas las terapias con GnRHa deben registrarse en la sección de medicamentos concomitantes del eCRF.

Un ciclo de tratamiento se define como 28 días. Los sujetos comenzarán a tomar niraparib el Día 1 del Ciclo 1. Se distribuirán cantidades suficientes de niraparib para cada ciclo de tratamiento el primer día de cada ciclo. Si los sujetos olvidan una dosis, entonces esa dosis debe reemplazarse si el sujeto lo recuerda dentro de un período aproximado de 12 horas. De cualquier otra manera, los sujetos deben tomar la siguiente dosis al día siguiente, sin compensar la dosis olvidada. Las dosis olvidadas deben registrarse en el eCRF.

#### Fase de preselección para la evaluación de biomarcadores

La Fase de preselección evaluará si un sujeto potencial es biomarcador positivo para las anomalías en la reparación del ADN. Se requerirá que todos los sujetos firmen un ICF específico para la Fase de preselección y proporcionen características demográficas de referencia e historial médico específico de la enfermedad. La Fase de preselección puede ocurrir en cualquier momento antes de la Fase de selección.

El proceso para determinar la positividad del biomarcador será diferente para los sujetos que ingresen a la Fase de preselección antes de que esté disponible un ensayo basado en sangre, en comparación con los sujetos que ingresen después de que esté disponible un ensayo basado en sangre. Los 2 procesos se describen más abajo.

Proceso para determinar la positividad del biomarcador antes de que esté disponible un ensayo basado en sangre

El sujeto firma el ICF de preselección. Si el panel de genes de FoundationOne® ha analizado previamente el tejido tumoral del sujeto, entonces después de que el sujeto otorgue una divulgación, los datos de FoundationOne® pueden revisarse para determinar la elegibilidad basada en los criterios

5 definidos en la Tabla 1. Si el sujeto es biomarcador positivo, ellos son elegibles para ingresar a la Fase de selección. Si el panel de genes de FoundationOne® no ha analizado previamente el tejido tumoral del sujeto, entonces ellos deben tener tejido tumoral ya sea de archivo o recientemente recolectado (recomendado) analizado para determinar la positividad del biomarcador

10 mediante una prueba aprobada por el patrocinador. Si el sujeto es biomarcador positivo, ellos son elegibles para ingresar a la Fase de selección.

Además, se recolectarán muestras de sangre de todos los sujetos durante la Fase de preselección y se almacenarán para cuando esté disponible un ensayo basado en sangre. En el momento en que esté disponible un ensayo

15 basado en sangre, la muestra de sangre almacenada se analizará para determinar la concordancia con los resultados de la muestra de tejido tumoral. Este análisis puede ocurrir en cualquier momento después de que esté disponible el ensayo basado en sangre.

Proceso para determinar la positividad del biomarcador después de que

20 esté disponible un ensayo basado en sangre

El sujeto firma el ICF de preselección. Se recolectó sangre del sujeto y se envió para el análisis de positividad del biomarcador. Si el panel de genes de

FoundationOne® ha analizado previamente el tejido tumoral del sujeto, entonces después de que el sujeto otorgue una divulgación, los datos de FoundationOne® pueden revisarse para determinar la elegibilidad basada en los criterios definidos en la Tabla 1. Si el sujeto es biomarcador positivo, ellos son elegibles para ingresar a la Fase de selección y no necesitan esperar los resultados del análisis basado en sangre. Si el panel de genes de FoundationOne® es negativo, el sujeto aún puede considerarse elegible si se determina que ellos son biomarcadores positivos por el ensayo basado en sangre. Si el panel de genes de FoundationOne® no ha analizado previamente el tejido tumoral del sujeto y el tejido de archivo está disponible, entonces se inicia una solicitud para la recuperación y el análisis del tejido tumoral archivado. Si los resultados del ensayo basado en sangre son biomarcadores positivos, entonces el sujeto es elegible para ingresar a la Fase de selección y no necesita esperar los resultados del análisis basado en tejido tumoral de archivo. Los resultados del análisis basado en tejido tumoral de archivo, cuando están disponibles, pueden usarse junto con los resultados basados en sangre para los estudios de concordancia y unión.

A criterio del patrocinador del estudio, si los resultados del ensayo basado en sangre son negativos, entonces los resultados basados en tejido tumoral de archivo pueden usarse para determinar la elegibilidad.

Si no está disponible tejido tumoral de archivo, entonces el sujeto debe aceptar que se recolecte tejido tumoral.

Si los resultados del ensayo basado en sangre son biomarcadores positivos, entonces el tejido tumoral reciente debe recolectarse antes del Día 1 del Ciclo 1 para usar posteriormente en los estudios de concordancia y unión. El análisis del tejido tumoral recientemente recolectado puede ocurrir en cualquier momento durante el estudio y los resultados pueden no ser necesarios antes de que el sujeto ingrese a la Fase de selección.

A criterio del patrocinador del estudio, si los resultados del ensayo basado en sangre son negativos, entonces el tejido tumoral recientemente recolectado puede usarse para determinar la elegibilidad.

Una vez que los sujetos se identifican como biomarcadores positivos durante la Fase de preselección, la Fase de selección debe comenzar dentro de 30 días.

#### Fase de selección

Todos los sujetos biomarcadores positivos deben firmar el ICF de estudio principal antes de realizar cualquier procedimiento relacionado con el estudio en la Fase de selección. Durante esta fase, se revisarán los criterios de elegibilidad y se realizará una evaluación clínica completa como se especifica en el Programa de tiempo y eventos. Los procedimientos de selección se realizarán hasta 35 días antes del Día 1 del Ciclo 1, a menos que se especifique de cualquier otra manera. Las imágenes se aceptarán hasta 8 semanas antes del Día 1 del Ciclo 1. Las evaluaciones de laboratorio de seguridad clínica de selección pueden usarse para las evaluaciones del Día 1 del Ciclo 1 si se realizan dentro de los 14 días del Ciclo 1.

Los sujetos que no cumplan con todos los criterios de inclusión, o que cumplan con un criterio de exclusión, pueden reelegirse una vez. La reelección es a criterio del investigador y requiere la aprobación y el acuerdo del patrocinador. Los sujetos que se reeleccionen deben firmar un nuevo ICF antes

5 de la reelección. Los sujetos reelegidos dentro de los 35 días de la inscripción planificada pueden usar los resultados iniciales del laboratorio de selección, tomografía computarizada (CT, por sus siglas en inglés)/imagen por resonancia magnética (MRI, por sus siglas en inglés) y tomografías óseas (si aún están dentro de las 8 semanas del Día 1 del Ciclo 1) para determinar la

10 elegibilidad, si no es así, la razón para la reelección.

#### Fase de tratamiento

La Fase de tratamiento comenzará en el Día 1 del Ciclo 1 y continuará hasta que se suspenda el fármaco de estudio. Las últimas mediciones tomadas en el Día 1 del Ciclo 1 antes de la administración del fármaco de estudio o en la selección

15 (cualquiera que fuera el último valor) se definirán como los valores de referencia. Las visitas para cada ciclo tendrán un período de  $\pm 3$  días, a menos que se especifique de cualquier otra manera. Las visitas de estudio se calcularán a partir de la fecha del Día 1 del Ciclo 1. A los sujetos se les pueden realizar imágenes dentro de  $\pm 7$  días de visitas que requieren imágenes. Consulte el Programa de tiempo y eventos para las

20 visitas y evaluaciones de tratamiento durante la Fase de tratamiento.

Para los días de muestreo de PK y farmacodinámica, el sujeto no debe tomar el fármaco de estudio en casa la mañana de las visitas de estudio. El fármaco de

estudio debe tomarse en el sitio. Los detalles de los días y las horas de muestreo de PK y farmacodinámica se proporcionan en el Programa de tiempo y eventos.

Detalles adicionales con respecto al muestreo de PK se proporcionan en la Sección 9.3. Los detalles de los procedimientos de manejo y almacenamiento de muestras de sangre para PK y farmacodinámica se proporcionan en el manual de laboratorio.

Las evaluaciones clínicas y los estudios de laboratorio pueden repetirse con más frecuencia, si están clínicamente indicados. El tratamiento con el fármaco de estudio continuará hasta que la progresión de la enfermedad, la toxicidad inaceptable, la muerte o el patrocinador finalice el estudio. Una vez que el sujeto suspende el fármaco de estudio, el sujeto debe completar la visita de final del tratamiento (EoT, por sus siglas en inglés) dentro de los 30 días posteriores a la última dosis del fármaco de estudio e ingresar a la Fase de seguimiento.

#### Visita de final del tratamiento

Una visita de final del tratamiento debe programarse dentro de los 30 días posteriores a la última dosis del fármaco de estudio o antes de la administración de una nueva terapia contra el cáncer de próstata, lo que ocurra primero. Si un sujeto no puede regresar al sitio para la visita de EoT, debe contactarse al sujeto para recolectar los AE que ocurrieron dentro de los 30 días posteriores a la última dosis del fármaco de estudio.

#### Fase de seguimiento

Una vez que un sujeto ha completado la Fase de tratamiento, se realizarán seguimiento de supervivencia y SSE cada 3 meses ya sea a través de visitas

clínicas, entrevistas telefónicas, revisión por chat u otros métodos convenientes. Las muertes, independientemente de la causalidad, y los SAE que se consideren relacionados con los fármacos de estudio se recolectarán e informarán dentro de las 24 horas del descubrimiento o notificación del evento. Si la información de

- 5 seguimiento se obtiene a través de contacto telefónico, la documentación escrita de la comunicación debe estar disponible para la revisión en los documentos de origen.

Muestra de biomarcadores positivos para las anomalías en la reparación del ADN

- Para evaluar si los sujetos son biomarcadores positivos, un ensayo basado en sangre puede estar disponible durante el estudio que proporcionará un método
- 10 más rápido que el análisis basado en tejidos para determinar el estado de biomarcadores positivos, mientras que es más conveniente para los sujetos.

- Antes de que el ensayo basado en sangre esté disponible, el tejido tumoral (ya sea de archivo o recientemente recolectado) requerirá un análisis. Para garantizar que todos los sujetos, independientemente de cuándo ingresen al estudio, tengan
- 15 los mismos datos de biomarcadores disponibles para el análisis (es decir, para los estudios de concordancia y unión), se recolectarán muestras de tejido tumoral y sangre de todos los sujetos que firmen el formulario de consentimiento informado (ICF, por sus siglas en inglés) de preselección. El proceso para determinar la
- positividad del biomarcador será diferente para los sujetos que ingresen a la Fase
- 20 de preselección antes de que esté disponible el ensayo basado en sangre, en comparación con los sujetos que ingresen después de que esté disponible el

ensayo basado en sangre. Sin embargo, el estado de positividad del biomarcador en el tejido tumoral y la sangre se evaluará para todos los sujetos.

Para ser elegibles para el estudio, los sujetos deben ser biomarcadores positivos confirmados por la prueba de tejido tumoral (ya sea de archivo o recientemente recolectado) o de sangre cuando esté disponible. Los biomarcadores de interés para este estudio y los criterios de positividad del biomarcador se enumeran en la Tabla 3. Se realizarán análisis para definir una variable para la pérdida bialélica (p. ej., la frecuencia de coexpresión de la mutación con la pérdida del número de copias) y estas variables pueden usarse para determinar la positividad del biomarcador a medida que esa información esté disponible.

Tabla 3: Panel y criterios de biomarcadores para la positividad

|    | Genes  | Definición                                                                                         | Lesión genómica requerida para la positividad <sup>a</sup>                                                                                                                                                |
|----|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | BRCA-1 | Gen de <u>cáncer</u> de <u>mama</u> <u>1</u>                                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Deleción homocigota</li> <li>- Deleción heterocigota + mutación deletérea</li> <li>- Pérdida de heterocigosidad de copia neutral + mutación deletérea</li> </ul> |
|    | BRCA-2 | Gen de <u>cáncer</u> de <u>mama</u> <u>2</u>                                                       |                                                                                                                                                                                                           |
| 15 | FANCA  | Gen de grupo de <u>complementación</u> <u>A</u> de la <u>anemia</u> de <u>Fanconi</u>              |                                                                                                                                                                                                           |
|    | PALB2  | <u>Socio</u> y <u>localizador</u> del gen <u>BRCA2</u>                                             |                                                                                                                                                                                                           |
|    | CHEK2  | Gen de <u>quinasa</u> de <u>puntos</u> de <u>control</u> <u>2</u>                                  |                                                                                                                                                                                                           |
| 20 | BRIP1  | Gen de <u>helicasa</u> <u>1</u> de la <u>proteína</u> C-terminal <u>interactuante</u> <u>BRCA1</u> |                                                                                                                                                                                                           |
|    | HDAC2  | Gen de <u>histona</u> <u>deacetilasa</u> <u>2</u>                                                  |                                                                                                                                                                                                           |
|    | ATM    | Gen de <u>ataxia</u> <u>telangiectasia</u> <u>mutado</u>                                           |                                                                                                                                                                                                           |

|                  |                                                             |                                                                    |
|------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| ATM              | Gen de <u>a</u> taxia <u>t</u> elangiectasia <u>m</u> utado | Mutación deletérea monoalélica en el dominio catalítico de quinasa |
| Genes de control |                                                             |                                                                    |
| AR               | Gen de <u>r</u> ceptor de <u>a</u> ndrógenos                |                                                                    |
| TP53             | Gen de <u>p</u> roteína <u>t</u> umoral <u>53</u>           |                                                                    |

- 5 La pérdida monoalélica en todos los genes será aceptable para ingresar al estudio hasta que se valide el algoritmo existente para la pérdida bialélica

#### Células tumorales circulantes

- Las muestras de sangre se recolectarán en un tubo Celsave en los puntos de tiempo especificados en el Programa de tiempo y eventos. La enumeración de CTC
- 10 se evaluará en el laboratorio central para evaluar la respuesta al fármaco de estudio.

#### Sangre entera para ARN

- Se recolectarán muestras de sangre entera en un tubo Paxgene. Múltiples transcritos de ácido ribonucleico (ARN) encontrados en tumores de próstata son detectables en el ARN y el análisis de estas muestras permitirá la evaluación de
- 15 los mecanismos potenciales de resistencia que pueden surgir con niraparib.

#### ADN tumoral circulante

- Las muestras de plasma recolectadas durante el transcurso del tratamiento se usarán para detectar cambios en los niveles o tipos de anomalías en la reparación del ADN observadas con el tiempo por el ADN tumoral circulante (ctDNA, por sus
- 20 siglas en inglés) y para monitorear marcadores potenciales de resistencia a niraparib.

Aunque la especificación anterior enseña los principios de la presente invención con ejemplos provistos para fines de ilustración, se entenderá que la

práctica de la invención abarca todas las variaciones, adaptaciones o modificaciones usuales que entran dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones y sus equivalentes.