

Brevetto europeo No. 4019019

Domanda di brevetto europeo No. 21207246.6

Data di deposito: 19 maggio 2017

Classificazione IPC: A61K31/428, C07D277/82, A61P35/00

5 Classificazione CPC: A61K39/3955 (EP,CN,EA,IL,KR,US); A61K31/428 (EP,EA,IL,KR,US); A61K31/426 (IL,US); A61K38/06 (CN); A61K39/39566 (CN,IL,US); A61K45/06 (EP,EA,IL,KR,US); (+)

Classificazione C-Set: A61K31/428, A61K2300/00 (EP,US); A61K38/06, A61K2300/00 (CN); A61K39/3955, A61K2300/00 (US,CN,EP); A61K39/39566, A61K2300/00 (CN)

Priorità: Statunitense No. 201662339433P del 20 maggio 2016

10 Titolo: USO DI RILUZOLO, PROFARMACI DI RILUZOLO O ANALOGHI DI RILUZOLO CON IMMUNOTERAPIE PER TRATTARE TIPI DI CANCRO

Richiedente: Biohaven Therapeutics Ltd.

215 Church Street

New Haven, CT 06510

15 U.S.A.

Inventore: CORIC, Vladimir

Descrizione

Campo dell'Invenzione

20 La presente invenzione concerne un profarmaco di riluzolo ed un inibitore di checkpoint immunitari per l'uso nel trattamento di cancro.

Sfondo dell'invenzione

Riluzolo (6-(trifluorometossi)benzotiazol-2-ammina) è un prodotto farmaceutico che è stato usato per il trattamento di sclerosi laterale amiotrofica (ALS). Recentemente, è stato mostrato che riluzolo ha altri benefici clinici.

25 Ad esempio, riluzolo somministrato per via orale in due dosi al giorno con una dose totale di 100 mg può alleviare o

trattare sintomi e disturbi neuropsichiatrici come disturbi dell'umore, ansietà, depressione refrattaria, ansietà ossessivo compulsiva e simili. In modo simile, vi sono indicazioni del fatto che dosi elevate di riluzolo possono avere alcuni effetti anti-cancro, ma non è ancora stato dimostrato che esso possieda effetti terapeutici anti-cancro di per sé.

5 In anni recenti, una serie di terapie anti-cancro che aveva come bersaglio il sistema immunitario ha dimostrato forte efficacia contro molti tipi di tumori. Nonostante questo nuovo approccio per trattare cancri con agenti immunoterapeutici, molti pazienti non mostrano una risposta o una remissione complete al trattamento con immunoterapie. Ancora, alcuni agenti immuno-oncologici combinati hanno tossicità significativa (principalmente, reazioni auto-immunitarie). Vi è una necessità urgente di aumentare o potenziare ulteriormente l'effetto di terapie immuno-oncologiche. Esempi di approcci terapeutici al cancro con agenti anti-cancro che hanno bersagli immunologici
10 includono: anti-PD-1, anti-PD-L1, anti-CTLA4 o altri bersagli immunoterapeutici o inibitori di checkpoint. Altri esempi di bersagli immuno-oncologici includono: CTLA4, antigene 4 associato a linfociti T citotossici; Ig, immunoglobulina; LAG3, gene 3 di attivazione di linfociti; mAb, anticorpi monoclonali; PD-1, proteina 1 di morte cellulare programmata; PDL, ligando di PD-1; TIM3, proteina di membrana 3 di cellule T, CD40L, A2aR, recettore A2a per adenosina; B7RP1, proteina 1 correlata a B7; BTLA, attenuatore di linfociti B e T; GAL9, galectina 9; HVEM, mediatore dell'ingresso di
15 herpesvirus; ICOS, co-stimolatore di cellule T inducibile; IL, interleuchina; KIR, recettore simil-immunoglobulinico di cellule killer; LAG3, gene 3 di attivazione di linfociti; PD-1, proteina 1 di morte cellulare programmata; PDL, ligando di PD-1; TGF β , fattore di crescita trasformante β ; TIM3, proteina 3 di membrana di cellule T e CD27. Altri bersagli immunologici includono: Anticorpo monoclonale anti-VEGF-2 (Mab), Mab anti-EGFr, inibitore di IDO1, Mab Anti-B7-H3, Mab anti-GITR, Mab anti-CD137, Mab anti-CD20, proteina di fusione di superagonista di IL-15/IL-15R α -Fc, Mab
20 anti-CXCR4, interleuchina-21, interleuchina-21, MAb anti-KIR, Mab anti-CD27, Mab anti-CSF-1R, Mab anti-CTLA-4 + GMCSF, Mab anti-CD30, Mab anti-LAG3, Mab anti-CD19, Mab anti-OX40, Mab anti-CD73, agonista di OX40 o altri agenti che includono molecole bi-specifiche, piccole molecole che hanno come bersaglio il sistema immunitario o coniugati o vaccini anti-farmaco.

25 Il fattore di Morte Programmata 1 (PD-1), una molecola inibitoria di checkpoint, è espresso su cellule T per limitare le risposte immunitarie periferiche. E' stato mostrato che il legame di PD-1 con i propri ligandi corrispondenti

B7-H1 (PD-L1) o B7-DC (PD-L2) porta all'inibizione diretta dell'attivazione effettrice di cellule T e al "esaurimento" di cellule T. E' stato dimostrato che PD-L1 e PD-L2 sono sovraespressi su cellule tumorali in una varietà di tumori umani, rappresentando un meccanismo potenziale di elusione immunitaria. Inoltre, l'espressione di PD-1 è aumentata in linfociti infiltranti tumori. Anti-PD-1 può bloccare l'aumento di PD-1 o modificarne gli effetti.

5 Riluzolo ha molteplici modalità di azione, inclusa l'azione come agente per la modulazione di glutammato. E' stato dimostrato che la glutammina, un amminoacido essenziale "in modo condizionato", è essenziale per la sintesi di macromolecole e per il metabolismo di cellule tumorali. E' stato dimostrato che una varietà di malignità solide sovraesprimono la glutammina fosfato-dipendente (GLS), che converte glutammina a dare glutammato, sottolineando ulteriormente il ruolo di glutammina nel metabolismo del cancro. Tuttavia, il glutammato è una riserva chiave di "scarti" di azoto ed è importante in una varietà di vie metaboliche cellulari. Come tale, la riduzione dei livelli di glutammina/glutammato in cellule immunitarie può ridurre la funzione proliferativa ed effettrice, limitando una risposta antitumorale mediata dal sistema immunitario. I modulatori di glutammato come riluzolo possono essere efficaci come parte di una terapia combinatoria con agenti anti-cancro che hanno come bersaglio il sistema immunitario per trattare una malattia. In particolare, i modulatori di glutammato come riluzolo sono usati con agenti immunoterapeutici, come alcuni agenti anti-cancro per trattare malattie proliferative come cancro. Anche gli analoghi di riluzolo possono avere effetti simili.

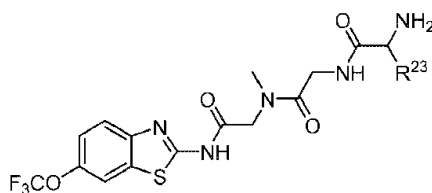
10 E' noto un numero di altri agenti per la modulazione di glutammato. Questi includono, ma non sono limitati a, memantina, n-acetilcisteina, amantadina, topiramato, pregabalina, lamotrigina, chetamina, s-chetamina, AZD8108, AZD 6765, BHV-4157, destrometorfano, AV-101, CERC-301, GLY-13 e loro profarmaci o analoghi. Questi agenti per la modulazione di glutammato includono anche, ma non sono limitati a, antagonisti di recettori NMDA, antagonisti di recettori del kainato, antagonisti dei recettori AMPA, recettori metabotropici del glutammato o agenti che hanno come bersaglio trasportatori di amminoacidi eccitatori o il trasporto vescicolare di glutammato. Questi modulatori del glutammato possono causare una riduzione nei livelli di glutammina/glutammato o aumentare il ciclo del glutammato aumentando l'espressione di trasportatori di amminoacidi eccitatori, causando una riduzione della funzione proliferativa ed effettrice.

Una terapia combinatoria che impiega riluzolo (o composti correlati) con un agente immunoterapeutico o con un farmaco anti-cancro, forniti contemporaneamente o in sequenza, può avere eccellenti proprietà di trattamento del cancro. Di fatto, vi possono essere effetti sinergici. Di conseguenza, la presente invenzione concerne una combinazione di un profarmaco di riluzolo (un composto correlato a riluzolo) ed un inibitore di checkpoint (un agente immunoterapeutico) per l'uso nel trattamento di cancro.

WO 2013/138753 concerne profarmaci di riluzolo e loro uso.

Riepilogo dell'Invenzione

La presente invenzione concerne un profarmaco di riluzolo ed un inibitore di checkpoint per l'uso nel trattamento di cancro, in cui il profarmaco di riluzolo è un composto avente la seguente formula:



o un suo enantiomero, diastereomero, idrato, solvato, sale farmaceuticamente accettabile o complesso;

in cui R^{23} è selezionato dal gruppo consistente in H, CH₃, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₃, CH₂CCH₃, CH(CH₃)₂, CH₂CH(CH₃)₂, CH(CH₃)CH₂CH₃, CH₂OH, CH₂OCH₂Ph, CH₂CH₂OCH₂Ph, CH(OH)CH₃, CH₂Ph, CH₂(cicloesile), CH₂(4-OH-Ph), (CH₂)₄NH₂, (CH₂)₃NHC(NH₂)NH, CH₂(3-indolo), CH₂(5-imidazolo), CH₂CO₂H, CH₂CH₂CO₂H, CH₂CONH₂, e CH₂CH₂CONH₂.

Il profarmaco di riluzolo può essere somministrato per via orale, sublinguale, sottocutanea o con qualsiasi altro mezzo di rilascio. Il profarmaco di riluzolo e l'inibitore di checkpoint possono essere rilasciati contemporaneamente o in sequenza. Se gli agenti sono rilasciati in sequenza, uno qualsiasi può essere rilasciato per primo e la separazione nel tempo può includere il termine completo del dosaggio di uno prima di iniziare il dosaggio dell'altro o essi possono essere sovrapposti nel tempo.

I profarmaci di riluzolo sono descritti nella Domanda di Brevetto degli Stati Uniti No. Seriale 14/385,551, nella Domanda di Brevetto degli Stati Uniti No. Seriale 14/410,647, nella Domanda PCT No. Seriale PCT/US2016/019773 e nella Domanda PCT No. Seriale PCT/US2016/019787, le formulazioni sublinguali di riluzolo che conferiscono stabilità e proprietà eccellenti sono descritte nella Domanda PCT No. Seriale PCT/US2015/061106 e nella Domanda PCT No. Seriale PCT/US2015/061114.

Una formulazione sublinguale utile nella presente invenzione comprende una quantità efficace di profarmaco di riluzolo. La formulazione fornisce sufficiente solubilità al profarmaco di riluzolo affinché possa essere incorporato nella formulazione sublinguale in dosi relativamente grandi e rilasciato a livello sublinguale. La formulazione è preferibilmente una formulazione del profarmaco di riluzolo modificata per la disintegrazione a livello orale. Gli eccipienti, inclusi mannitolo e gelatina, sono mescolati, solubilizzati con acqua e deaerati prima di essere miscelati con l'ingrediente farmaceuticamente attivo (o "API"), il profarmaco di riluzolo, che è stato macinato separatamente. La dimensione particellare del API (D50) è inferiore a circa 2 micron. La miscela è liofilizzata mediante congelamento rapido e poi crioessiccata. La formulazione ha buona palatabilità orale.

La quantità efficace del profarmaco di riluzolo della formulazione sublinguale utili nella presente invenzione per ottenere una dose terapeutica inferiore può essere inferiore a quella dell'agente somministrato per via orale. Inoltre, la dose efficace della formulazione sublinguale del profarmaco di riluzolo può essere da circa 1 a 95 % rispetto a quella dell'agente somministrato per via orale. Nella misura nella quale può essere preparata una formulazione sublinguale dell'inibitore di checkpoint, esso può avere anche proprietà migliorate.

Il profarmaco di riluzolo come parte della formulazione per il trattamento di cancro o di sintomi può essere somministrato con una dose di o inferiore a circa 400 mg/giorno, di o inferiore a circa 300 mg/giorno, di o inferiore a circa 150 mg/giorno, di o inferiore a circa 100 mg/giorno, di o inferiore a circa 70 mg/giorno, di o inferiore a circa 60 mg/giorno, di o inferiore a circa 50 mg/giorno, di o inferiore a circa 42,5 mg/giorno, di o inferiore a circa 37,5 mg/giorno, di o inferiore a circa 35 mg/giorno, di o inferiore a circa 20 mg/giorno, di o inferiore a circa 17,5 mg/giorno, di o inferiore a circa 15 mg/giorno, di o inferiore a circa 10 mg/giorno, di o inferiore a circa 5 mg/giorno o di o inferiore a circa 1 mg/giorno. In aggiunta, l'inibitore di checkpoint dovrebbe essere somministrato ad una dose di circa 1-100 mg/kg; ad

esempio, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 5 mg/kg, 7,5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg, 100 mg/kg o qualsiasi valore intermedio. Un inibitore di checkpoint preferito è anti-PD-1.

Il dosaggio può essere giornaliero, in giorni alternati, settimanale o avere una separazione maggiore nel tempo. In alcune circostanze, può essere usato un dosaggio più frequente. In aggiunta, il profarmaco di riluzolo e l'inibitore di checkpoint possono essere rilasciati contemporaneamente o in sequenza.

Questi ed altri aspetti e caratteristiche dell'invenzione risulteranno chiari dai disegni e dalla descrizione dettagliata.

Descrizione del Disegno

L'unica Figura del Disegno illustra i risultati del test descritto nell'Esempio 1, in cui sono stati testati tre livelli di profarmaco di riluzolo (BHV-4157), anti-PD-1, varie combinazioni di anti-PD-1 e BHV-4157 ed un controllo per verificare se la combinazione modificasse la sopravvivenza in un modello animale di glioblastoma.

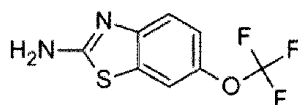
Descrizione dettagliata dell'Invenzione

La seguente descrizione dettagliata è fornita per aiutare coloro esperti nell'arte a mettere in pratica la presente invenzione. Coloro aventi ordinaria esperienza nell'arte possono apportare modifiche e variazioni alle forme di realizzazione descritte qui. Se non altrimenti definito, tutti i termini tecnici e scientifici usati qui hanno lo stesso significato come inteso comunemente da uno di ordinaria esperienza nell'arte a cui appartiene questa descrizione. La terminologia usata nella descrizione serve solo a descrivere particolari forme di realizzazione e non è intesa come limitativa.

I seguenti termini sono usati per descrivere la presente invenzione. In casi in cui non sia definito in modo specifico qui, a un termine è associato un significato riconosciuto nell'arte da parte di coloro aventi ordinaria esperienza applicando quel termine nel contesto del suo uso nel descrivere la presente invenzione.

Gli articoli "un" e "uno" come usati qui e nelle rivendicazioni allegate sono usati qui con riferimento ad uno o più di uno (ovvero, ad almeno uno) degli oggetti grammaticali dell'articolo, a meno che il contesto non indichi chiaramente il contrario. A titolo esemplificativo, "un elemento" indica un elemento o più di un elemento.

Il termine "riluzolo", come usato qui, è riferito ad un farmaco avente una struttura chimica, come segue. Esso è attualmente disponibile sul mercato come RILUTEK®. Il termine "riluzolo" è riferito anche a tutti i profarmaci, enantiomeri o derivati e suoi sali farmaceuticamente accettabili.

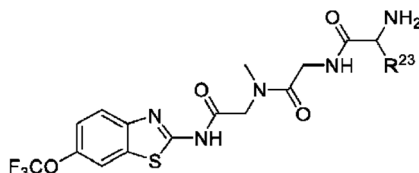


5 6-(trifluorometossi)benzotiazol-2-ammina.

Il termine "somministrazione sublinguale", come usato qui, è riferito ad una via di somministrazione di un agente chimico o di un farmaco ponendoli sotto la lingua di un soggetto.

10 Il termine "profarmaco", come usato qui, è un precursore di un farmaco che può essere somministrato in una forma alterata o meno attiva. Il profarmaco può essere convertito a dare la forma di farmaco attivo in ambienti fisiologici mediante idrolisi o altre vie metaboliche.

Il termine "profarmaco di riluzolo" è riferito ad un composto che è un derivato di riluzolo con una modificazione al suo interno. Un profarmaco di riluzolo può anche essere riferito ad un composto che è metabolizzato a dare una forma attiva di riluzolo nel corpo. Il profarmaco di riluzolo in accordo con la presente invenzione è un composto che ha la seguente formula;



15 o un suo enantiomero, diastereoisomero, idrato, solvato, sale farmaceuticamente accettabile o complesso;

20 in cui R²³ è selezionato dal gruppo consistente in H, CH₃, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₃, CH₂CCH₃, CH(CH₃)₂, CH₂CH(CH₃)₂, CH(CH₃)CH₂CH₃, CH₂OH, CH₂OCH₂Ph, CH₂CH₂OCH₂Ph, CH(OH)CH₃, CH₂Ph, CH₂(cicloesile), CH₂(4-OH-Ph), (CH₂)₄NH₂, (CH₂)₃NHC(NH₂)NH, CH₂(3-indolo), CH₂(5-imidazolo), CH₂CO₂H, CH₂CH₂CO₂H, CH₂CONH₂, e CH₂CH₂CONH₂.

Il termine "ALS", come usato qui, significa Sclerosi Laterale Amiotrofica.

Il termine "agente immunoterapeutico anti-cancro" include qualsiasi agente che ha come bersaglio il sistema immunitario per ottenere un effetto terapeutico anti-cancro. Tali bersagli ed agenti includono, ma non sono limitati a: anti-PD-1, anti-PD-L1, anti-CTLA4 o altri bersagli immunoterapeutici o inibitori di checkpoint. Altri esempi di bersagli immuno-oncologici includono: CTLA4, antigene 4 associato a linfociti T citotossici; Ig, immunoglobulina; LAG3, gene 3 di attivazione di linfociti; mAb, anticorpi monoclonali; PD-1, proteina 1 di morte cellulare programmata; PDL, ligando di PD-1; TIM3, proteina di membrana 3 di cellule T, CD40L, A2aR, recettore A2a per adenosina; B7RP1, proteina 1 correlata a B7; BTLA, attenuatore di linfociti B e T; GAL9, galectina 9; HVEM, mediatore dell'ingresso di herpesvirus; ICOS, co-stimolatore di cellule T inducibile; IL, interleuchina; KIR, recettore simil-immunoglobulinico di cellule killer; LAG3, gene 3 di attivazione di linfociti; PD-1, proteina 1 di morte cellulare programmata; PDL, ligando di PD-1; TGF β , fattore di crescita trasformante β ; TIM3, proteina 3 di membrana di cellule T e CD27. Altri bersagli immunologici includono: Anticorpo monoclonale anti-VEGF-2 (Mab), Mab anti-EGFr, inibitore di IDO1, Mab Anti-B7-H3, Mab anti-GITR, Mab anti-CD137, Mab anti-CD20, proteina di fusione di superagonista di IL-15/IL-15R α -Fc, Mab anti-CXCR4, interleuchina-21, interleuchina-21, Mab anti-KIR, Mab anti-CD27, Mab anti-CSF-1R, Mab anti-CTLA-4 + GM-CSF, Mab anti-CD30, Mab anti-LAG3, Mab anti-CD19, Mab anti-OX40, Mab anti-CD73, agonista di OX40 o altri agenti che includono molecole bi-specifiche, piccole molecole che hanno come bersaglio il sistema immunitario o coniugati o vaccini anti-farmaco o nivolumab (Opdivo), pembrolizumab (Keytruda), pidilizumab, ipilimumab (Yervoy), PDR001, MEDI0680, atezolizumab, durvalumab o loro combinazioni.

Il termine "cancro" include, ma non è limitato a, le seguenti malattie proliferative: Leucemia Linfoblastica Acuta (ALL), Leucemia Mieloide acuta (AML), Carcinomi Adrenocorticali, cancri dell'infanzia, tipi di cancro correlati con AIDS, Sarcoma di Kapos, Linfoma correlato con AIDS, Linfoma Primario del SNC, Cancro Anale, Astrocitomi, Teratoide Atipico/Tumore Rabdoide, Carcinoma di Cellule Basali, Cancro della Pelle (Non melanoma), Cancro dei Dotti Biliari, Cancro della Vescica, Cancro delle Ossa, Famiglia di Tumori del Sarcoma di Ewing, Osteosarcoma e Istiocitoma Fibroso Maligno, Glioma del Tronco Encefalico, Teratoide Atipico/Tumore Rabdoide, Tumori Embrionali, Tumori di Cellule Germinali, Craniofaringioma, Ependimoma, Cancro Mammario, Tumori Bronchiali, Linfoma di Burkitt, Linfoma

Non-Hodgkin, Tumore Carcinoide, Carcinoma Gastrointestinale, Tumori Cardiaci (Cuore), Linfoma Primario, Cancro della Cervice, Colangiocarcinoma, Cordoma, Leucemia Linfocitica Cronica (CLL), Leucemia Mielogena Cronica (CML), Neoplasmi Mieloproliferativi Cronici, Cancro del Colo, Cancro Coloretale, Craniofaringioma, Linfoma a cellule T Cutaneo, Mycosis Fungoides e Sindrome di Sézary, Carcinoma Duttale In Situ (DCIS), Tumori Embrionali, Cancro dell'Endometrio, Ependimoma, Cancro Esofageo, Estesioneuroblastoma, Tumore delle Cellule Germinali Extracraniali, Tumore delle Cellule Germinali Extragonadali, Cancro dell'Occhio, Melanoma Intraoculare, Retinoblastoma, Cancro delle Tube di Falloppio, Istiocitoma Fibroso dell'Osso, Osteosarcoma Maligno, Cancro della Cistifellea, Cancro Gastrico (Stomaco, Tumore Carcinoide Gastrointestinale, Tumori Stromali Gastrointestinali (GIST), Tumore delle Cellule Germinali, Tumore Ovarico, Tumore del Testicolo, Malattia Trofoblastica Gestazionale, Glioma, Leucemia a Cellule Capellute, Cancro di Testa e Collo, Cancro Epatocellulare (Fegato), Istiocitosi, Tumore delle Cellule di Langerhans, Linfoma di Hodgkin, Cancro Ipofaringeo, Tumori delle Cellule degli Isolotti, Tumori Neuroendocrini Pancreatici, Sarcoma di Kaposi, Tumore del Rene, Tumore delle Cellule Renali, Istiocitosi delle Cellule di Langherhans, Cancro Laringeo, Leucemia, Leucemia Linfoblastica Acuta (ALL), Leucemia Mieloide Acuta (AML), Leucemia Linfocitica Cronica (CLL), Leucemia Mielogena Cronica (CML, Cancro a Cellule Capellute, Cancro delle Labbra e della Cavità Orale, Cancro del Fegato (primario), Cancro Polmonare, a Cellule Non Piccole, A cellule Piccole, Linfoma, Hodgkin, non Hodgkin, Macroglobulinemia, Waldenström, Cancro Mammario Maschile, Melanoma, Carcinoma delle Cellule di Merkel, Mesotelioma, Cancro Squamoso Metastatico del Collo con Carcinoma del Tratto della Linea Mediana Primario Occulto che coinvolge il Gene NUT, Cancro della Bocca, Sindromi Multiple di Neoplasia Endocrina, Mieloma Multiplo/Neoplasma di Cellule Plasmatiche, Mycosis Fungoides, Sindromi Mielodisplastiche, Neoplasmi Mielodisplastici/Mieloproliferativi, Leucemia Mielogena, Leucemia Mieloide Cronica (CML), Mieloma Acuto (AML), Multiplo, Neoplasmi Mieloproliferativi, Cancro della Cavità Nasale e dei Seni Paranasali, Cancro Nasofaringeo, Neuroblastoma, Linfoma Non-Hodgkin, Cancro Polmonare a Cellule Non Piccole, Cancro Orale, Cancro della Cavità Orale, Cancro delle Labbra e Cancro Orofaringeo, Osteosarcoma e Istiocitoma Fibroso Maligno dell'Osso, Cancro Ovarico, Tumore Con Basso Potenziale Maligno, Cancro del Pancreas, Tumori Neuroendocrini Pancreatici (Tumori delle cellule degli Isolotti), Papillomatosi, Paraganglioma, Cancro dei Seni Paranasali e della Cavità Nasale, Cancro della

Paratiroide, Cancro del Pene, Cancro Faringeo, Feocromocitoma, Tumore Pituitario, Neoplasma di Cellule Plasmatiche/Mieloma Multiplo, Blastoma Pleuropolmonare, Cancro della Gravidanza e della Mammella, Linfoma Primario del Sistema Nervoso Centrale (SNC), Cancro Peritoneale Primario, Cancro della Prostata, Cancro Rettale, Cancro delle Cellule Renali (Rene), Pelvi Renale ed Uretere, Cancro a Cellule Transizionali, Retinoblastoma, 5 Rabdomiosarcoma, Cancro delle Ghiandole Salivari, Rabdomiosarcoma, Uterino, Cancro dell'Intestino Tenue, Sarcoma dei Tessuti Molli, Carcinoma a Cellule Squamose, Cancro Squamoso del Collo con Cancro dello Stomaco (Gastrico) Metastatico Primario Occulto, Linfoma a Cellule T, Cancro dei Testicoli, Cancro della Gola, Timoma e Carcinoma del Timo, Cancro della Tiroide, Cancro a cellule Transizionali della Pelvi Renale e Uretere, Cancro a Cellule Transizionali di Uretere e Pelvi Renale Primario, Sconosciuto, Cancro dell'Uretere, Cancro Uterino, Endometriale, Sarcoma Uterino, 10 Cancro della Vagina, Cancro della Vulva, Macroglobulinemia di Waldenström e Tumore di Wilms.

Il termine "trattamento", come usato qui, include qualsiasi trattamento di una condizione o di una malattia in un soggetto o in un particolare un umano e può includere: (i) prevenire che la malattia o la condizione si verifichino nel soggetto che può essere predisposto alla malattia, ma a cui non è ancora stata diagnosticata; (ii) inibire la malattia o la condizione, ovvero arrestarne lo sviluppo; alleviare la malattia o la condizione, ovvero causare la regressione della 15 condizione o (iii) migliorare o alleviare le condizioni causate dalla malattia, ovvero i sintomi della malattia. "Trattamento", come usato qui, può essere usato in combinazione con altre terapie standard o solo.

Il termine "efficace" è usato per descrivere una quantità di un composto, una composizione o un componente che, quando usati nel contesto del loro uso previsto, consente di ottenere un risultato previsto.

Il termine "quantità efficace" è riferito a quella quantità che è sufficiente ad effettuare un trattamento, come 20 definito qui, quando somministrata ad un soggetto che necessita di tale trattamento. La quantità efficace varierà a seconda del soggetto e della condizione patologica trattata, della gravità della sofferenza e dalla modalità di somministrazione e può essere determinata come di routine da uno avente ordinaria esperienza nell'arte.

Il termine "sale farmaceuticamente accettabile" è usato nella descrizione per descrivere, dove applicabile, una forma di sale di uno o più dei composti o dei profarmaci descritti qui che sono presentati per aumentare la solubilità del 25 composto nei succhi gastrici o gastroenterici del tratto gastrointestinale del paziente al fine di promuovere la dissoluzione

e la biodisponibilità dei composti. I sali farmaceuticamente accettabili includono quelli derivati da basi e acidi inorganici od organici farmaceuticamente accettabili, dove applicabile. I sali adatti includono quelli derivati da metalli alcalini come potassio e sodio, da metalli alcalino terrosi come sali di calcio, magnesio ed ammonio, tra i numerosi altri acidi e basi ben noti nell'arte farmaceutica. I sali di sodio e di potassio sono particolarmente preferiti come sali di neutralizzazione dei fosfati in accordo con la presente invenzione. In una forma di realizzazione preferita, la descrizione fornisce sali farmaceuticamente accettabili dei peptidi modificati come descritti qui, che mantengono l'efficacia e le proprietà biologiche dei composti da cui derivano che non sono biologicamente o altrimenti pericolosi al dosaggio somministrato. I composti di questa invenzione sono in grado di formare sia acidi sia basi grazie alla presenza di gruppi amminici e carbossilici, rispettivamente.

10 Il termine "C_{max}", come usato qui, è riferito ad una concentrazione massima di un farmaco nel sangue, nel siero, in un compartimento specificato o in un'area di test di un soggetto tra la somministrazione di una prima dose e la somministrazione di una seconda dose. Il termine C_{max} può anche essere riferito a rapporti di dosi normalizzati, se specificato.

15 Il termine "T_{max}", come usato qui, è riferito ad un tempo o un periodo dopo la somministrazione di un farmaco, quando è raggiunta la concentrazione massima (C_{max}) nel sangue, nel siero, in un compartimento specificato o in un'area di test di un soggetto.

20 Il termine "AUC" (area sottesa la curva), come usato qui, è riferito ad una quantità totale del farmaco assorbita o a cui è esposto un soggetto. In generale, la AUC può essere ottenuta con un metodo matematico da un grafico della concentrazione di farmaco nel soggetto nel tempo fino a che la concentrazione è trascurabile. Il termine "AUC" (area sottesa la curva) può anche essere riferito ad una AUC parziale in intervalli di tempo specificato (come può essere il caso con l'assorbimento sublinguale che aumenterebbe la AUC in intervalli di tempo anticipati).

25 L'invenzione concerne una terapia combinatoria che utilizza il profarmaco di riluzolo in accordo con la presente invenzione ed un inibitore di checkpoint. La combinazione di questi due farmaci può essere somministrata in una singola dose o come prodotto combinato, somministrata contemporaneamente usando formati uguali o distinti o somministrata in sequenza usando forme uguali o differenti di rilascio. Ad esempio, se l'inibitore di checkpoint e il profarmaco di riluzolo

5 possono essere preparati entrambi come compressa o come parte di una forma sublinguale, essi possono essere somministrati insieme. In modo simile, se l'inibitore di checkpoint può essere somministrato solo mediante iniezione (di bolo o endovenosa) e il profarmaco di riluzolo può essere somministrato nello stesso formato, esso può essere usato anche per la somministrazione contemporanea o in sequenza. Tuttavia, se l'inibitore di checkpoint può essere rilasciato solo
5 mediante iniezione (ad esempio, se è un anticorpo) e il profarmaco di riluzolo può essere rilasciato come compressa o in modo simile, il rilascio dei due agenti può avvenire mediante formati differenti.

10 Il profarmaco di riluzolo può essere somministrato per via sublinguale. La Domanda PCT No. PCT/US2015/061106 e la Domanda PCT No. PCT/US2015/061114 descrivono una formulazione sublinguale di riluzolo. La formulazione sublinguale può essere somministrata in una quantità efficace ad un soggetto che lo necessita. Il soggetto può essere un animale o un umano.

Per l'uso con la presente invenzione, il profarmaco di riluzolo o i suoi farmaci farmaceuticamente accettabili possono essere formulati in una composizione farmaceutica adatta alla somministrazione sublinguale. In alcune circostanze, l'inibitore di checkpoint può anche essere formulato per via sublinguale, sebbene l'iniezione sia uno standard.

15 I profarmaci di riluzolo possono essere formulati usando trasportatori farmaceuticamente accettabili ben noti nell'arte con dosaggi adatti per la somministrazione sublinguale o buccale. Tali trasportatori consentono che il profarmaco di riluzolo per somministrazione sublinguale sia formulato in forme di dosaggio come compresse, polveri, pillole, capsule, liquidi, gel, sciroppi, impasti, sospensioni e simili per l'assorbimento da parte di un soggetto da trattare. Questi trasportatori possono essere selezionati, ma non sono limitati a, zuccheri, amidi, cellulosa e suoi derivati, malto, gelatina, talco, solfato di calcio, oli vegetali, oli sintetici, polioli, acido alginico, soluzioni tamponate con fosfati, emulsionanti,
20 soluzione salina isotonica, acqua senza pirogeni e loro combinazioni. In particolare, qualsiasi forma della sostanza può essere accettata per la somministrazione sublinguale se si scioglie facilmente nella saliva.

25 L'agente chimico o il farmaco somministrati per via sublinguale si può diffondere nei capillari attraverso la membrana mucosa sotto la lingua ed entrare nel circolo venoso del soggetto. Come tale, la somministrazione sublinguale può avere dei vantaggi rispetto alla somministrazione orale dato che consente un ingresso diretto e più rapido nel circolo venoso, senza rischi di degradazione nel tratto gastrointestinale, alterazione da parte del metabolismo di farmaci nel fegato

e simili. Vari farmaci sul mercato sono progettati per la somministrazione sublinguale. Riluzolo è usato in generale per trattare la sclerosi laterale amiotrofica (ALS). Tuttavia, sono stati trovati altri usi e in particolare, i riluzolo o i profarmaci di riluzolo o i suoi sali farmaceuticamente accettabili sono sottoposti ad una somministrazione sublinguale per il trattamento di altri disturbi, incluso il cancro.

5 La composizione farmaceutica può includere un ingrediente farmaceuticamente approvato, ovvero il profarmaco di riluzolo, in una quantità efficace per ottenere il suo scopo previsto. Ad esempio, la dose del profarmaco di riluzolo somministrata a livello sublinguale al soggetto potrebbe essere sufficiente a fornire una risposta benefica nel soggetto nel tempo, come la riduzione dei sintomi insieme all'inibitore di checkpoint. La combinazione può avere effetti sinergici.

10 La quantità del profarmaco di riluzolo e la quantità dell'inibitore di checkpoint da somministrare possono dipendere dal soggetto da trattare, inclusi la sua l'età, il sesso, il peso e la condizione di salute generale. A tal proposito, le quantità precise del(gli) agente(i) per la somministrazione dipenderanno dal giudizio del medico. Nella determinazione della quantità efficace del profarmaco di riluzolo e dell'inibitore di checkpoint da somministrare nel trattamento e nella riduzione delle condizioni associate con i sintomi e con i disordini, il medico può valutare fattori clinici che includono la gravità dei sintomi o la progressione del disturbo. In alcune condizioni, può essere desiderabile un rapido assorbimento del profarmaco di riluzolo o dell'inibitore di checkpoint. In qualsiasi caso, coloro esperti nell'arte potranno facilmente determinare dosaggi adatti degli agenti chimici dell'invenzione.

15 La composizione farmaceutica include anche altri trasportatori e/o eccipienti farmaceuticamente accettabili come leganti, lubrificanti, diluenti, rivestimenti, disintegranti, componenti dello strato barriera, glidanti, agenti coloranti, potenziatori di solubilità, agenti gelificanti, riempitivi, proteine, co-fattori, emulsionanti, agenti solubilizzanti, agenti per la sospensione e loro miscele. Un artigiano esperto dell'arte saprà quali altri trasportatori e/o eccipienti farmaceuticamente accettabili potrebbero essere inclusi nelle formulazioni per l'uso in accordo con l'invenzione. La scelta degli eccipienti dipenderà dalle caratteristiche delle composizioni e dalla natura degli altri composti farmacologicamente attivi nella formulazione. Eccipienti appropriati sono noti a coloro esperti nell'arte (vedi, Handbook of Pharmaceutical Excipients, quinta edizione, 2005 edita da Rowe et al., McGraw Hill) e sono stati utilizzati per ottenere una nuova formulazione sublinguale avente proprietà inattese.

In aggiunta, la composizione farmaceutica per l'uso sublinguale può essere ottenuta combinando un ingrediente farmaceutico approvato con ulteriori eccipienti, con ulteriore processamento per ottenere forme di dosaggio come compresse, polveri, pillole, capsule, liquidi, gel, sciroppi, impasti, sospensioni e simili per l'assorbimento sublinguale da parte di un soggetto da trattare. Eccipienti adatti possono essere, ma non sono limitati a, riempitivi come zuccheri, incluso lattosio, saccarosio, mannitolo o sorbitolo; preparazioni di cellulosa come amido di mais, amido di frumento, amido di riso, amido di patata, gelatina, gomma tragacante, metil cellulosa, idrossipropil metil cellulosa, carbossimetilcellulosa di sodio e/o polivinil pirrolidone (PVP). Se desiderato, possono essere combinati anche agenti disintegranti ed agenti disintegranti esemplificativi possono essere, ma non sono limitati a, polivinil pirrolidone reticolato, agar o acido alginico o un suo sale come alginato di sodio. Le composizioni possono essere preparate con qualsiasi metodo farmaceutico, ma tutti i metodi includono la fase di portare in associazione uno o più agenti chimici, come descritti sopra, il trasportatore costituendo uno o più degli ingredienti necessari. In generale, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione possono essere realizzate con metodi convenzionali noti nell'arte, ad esempio, mediante miscelazione convenzionale, dissoluzione, granulazione, preparazione di confetti, levigatura, emulsione, incapsulazione, intrappolamento, processi di liofilizzazione e simili.

La formulazione sublinguale utile nel prodotto combinato dell'invenzione può essere preparata in forma di una compressa di dissoluzione o disintegrazione orale (ODT). La ODT come usata qui può essere preparata miscelando il profarmaco di riluzolo e/o l'inibitore di checkpoint con diluenti solubili in acqua e compressi a dare una compressa. Una sospensione comprendente il prodotto attivo può essere preparata con eccipienti appropriati e la sospensione può essere distribuita in confezioni blister e crioessiccata. Una piattaforma per la preparazione crioessiccata esemplificativa che può essere usata per la ODT è la formulazione ZYDIS[®] (Catalent, Somerset, NJ, USA). In particolare, gli eccipienti, inclusa acqua, sono mescolati e il profarmaco di riluzolo è dimensionato separatamente mediante macinatura e miscelato con gli eccipienti. La sospensione è poi sottoposta a liofilizzazione mediante congelamento rapido e crioessiccazione. Altri metodi per preparare ODT possono essere usati senza limitazione e la descrizione dettagliata dei loro metodi generali sono stati descritti, ad esempio, nei Brev. U.S. No 5,631,023; 5,837,287; 6,149,938; 6,212,791; 6,284,270; 6,316,029;

6,465,010; 6,471,992; 6,471,992; 6,509,040; 6,814,978; 6,908,626; 6,908,626; 6,982,251; 7,282,217; 7,425,341; 7,939,105; 7,993,674; 8,048,449; 8,127,516; 8,158,152; 8,221,480; 8,256,233e 8,313,768.

5 La formulazione sublinguale utile nell'invenzione comprende il profarmaco di riluzolo. In alcune circostanze, l'inibitore di checkpoint può essere preparato a dare un profarmaco. Il profarmaco può essere una forma simile o meno attiva di quella attiva. Il profarmaco può avere caratteristiche fisicochimiche, fisiologiche, farmacocinetiche o terapeutiche migliorate quando somministrato per via sublinguale. Il profarmaco può ridurre gli effetti collaterali quando somministrato per via orale o sublinguale.

10 L'effetto clinico o terapeutico del composto o una sub-porzione del prodotto finale, formulati per la somministrazione sublinguale possono avere un profilo farmacocinetico migliorato per l'agente farmaceutico, come misurato mediante parametri di test standard. Quando il profarmaco di riluzolo o la composizione totale sono somministrati per via sublinguale, Tmax, Cmax e AUC del farmaco possono essere migliorati a confronto con la stessa dose della versione somministrata per via orale dello stesso composto. Ad esempio, la formulazione sublinguale del profarmaco di riluzolo può avere una Cmax maggiore rispetto al profarmaco di riluzolo somministrato per via orale per fornire un effetto terapeuticamente benefico. La formulazione sublinguale del profarmaco di riluzolo può avere una Tmax anticipata o inferiore rispetto al profarmaco di riluzolo somministrato per via orale per fornire un effetto terapeuticamente benefico e in alcuni casi un effetto terapeuticamente più rapido. In alternativa, la formulazione sublinguale del profarmaco di riluzolo può avere una AUC per milligrammo maggiore dell'agente rispetto al profarmaco di riluzolo somministrato per via orale. In aggiunta, dato che il profarmaco di riluzolo può rendere l'inibitore di checkpoint più efficace, potrebbero essere necessarie quantità inferiori dell'inibitore di checkpoint per ottenere lo stesso risultato, con una diminuzione degli effetti collaterali correlati.

20 La presente invenzione fornisce un profarmaco di riluzolo ed un inibitore di checkpoint in accordo con la presente invenzione per l'uso in un metodo per trattare un cancro. Il metodo può comprendere la somministrazione sublinguale di una quantità efficace di profarmaco di riluzolo o di suoi sali farmaceuticamente accettabili ed un inibitore di checkpoint o un suo sale farmaceuticamente accettabile ad un soggetto che lo necessita.

L'identificazione del soggetto che necessita di tale trattamento può rientrare nella capacità di giudizio del soggetto o un professionista della cura medica e può essere soggettiva (ovvero, un'opinione) o oggettiva (ad esempio, misurabile con un test o con un metodo diagnostico). Il soggetto identificato può essere un animale o un umano che lo necessita, in particolare un umano. Tale trattamento sarà somministrato in modo appropriato a soggetti, in particolare
5 umani, che soffrono di una malattia.

La quantità efficace per il trattamento varierà a seconda del soggetto e della condizione patologica trattata, della gravità della sofferenza e dalla modalità di somministrazione e può essere determinata come di routine da uno avente ordinaria esperienza nell'arte.

L'effetto terapeutico del prodotto combinato, in particolare quando applicato nel trattamento dei sintomi, può verificarsi in modo evidente entro circa pochi minuti fino a circa un'ora dopo la sua somministrazione. In particolare, l'effetto terapeutico può iniziare entro circa 1 minuto, entro circa 2 minuti, entro circa 3 minuti, entro circa 4 minuti, entro
10 circa 5 minuti, entro circa 6 minuti, entro circa 7 minuti, entro circa 8 minuti, entro circa 9 minuti, entro circa 10 minuti, entro circa 11 minuti, entro circa 12 minuti, entro circa 13 minuti, entro circa 14 minuti, entro circa 15 minuti, entro circa 16 minuti, entro circa 17 minuti, entro circa 18 minuti, entro circa 20 minuti, entro circa 60 minuti o entro circa 90 minuti
15 dopo la somministrazione. Tuttavia, una cura o un miglioramento a lungo termine della malattia possono non verificarsi per settimane o mesi dopo la somministrazione.

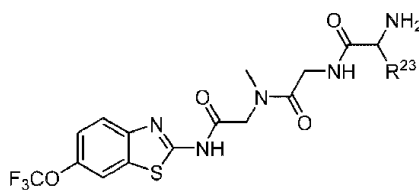
Gli effetti sui sintomi possono essere mantenuti per circa 1 ora, per circa 2 ore, per circa 3 ore, per circa 4 ore, per circa 5 ore, per circa 6 ore, per circa 7 ore, per circa 8 ore, per circa 9 ore, per circa 10 ore, per circa 12 ore, per circa 14 ore, per circa 16 ore, per circa 18 ore, per circa 20 ore, per circa 22 ore, per circa 24 ore, per circa 2 ore o per circa 3
20 giorni o più dopo la sua somministrazione. Si spera che una volta che gli effetti a lungo termine della condizione patologica sono stati ottenuti, la malattia e i sintomi saranno eliminati in modo permanente.

La quantità efficace o la dose del profarmaco di riluzolo per la somministrazione sublinguale può essere inferiore a quelle dell'agente somministrato per via orale. In particolare, la dose efficace nella somministrazione sublinguale del profarmaco di riluzolo può essere circa l'1-95% della dose dell'agente somministrato per via orale stesso. In aggiunta, una

riduzione simile della quantità dell'inibitore di checkpoint può essere ottenuta mediante somministrazione del profarmaco di riluzolo stesso, con qualsiasi modalità di somministrazione.

Frequenze di dosaggio opzionali includono una volta al giorno, due volte al giorno, tre volte al giorno, quattro volte al giorno, una volta ogni due giorni, una volta alla settimana, due volte alla settimana, tre volte alla settimana, quattro volte alla settimana, una volta ogni due settimane, una volta o due volte al mese e simili.

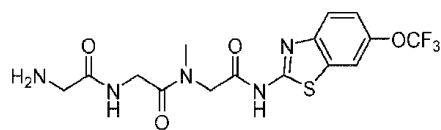
I profarmaci di riluzolo sono descritti nella Domanda di Brevetto degli Stati Uniti No. Seriale 14/385,551, nella Domanda di Brevetto degli Stati Uniti No. Seriale 14/410,647, nella Domanda PCT No. Seriale PCT/US2016/019773 e nella Domanda PCT No. Seriale PCT/US2016/019787. I profarmaci di riluzolo in accordo con l'invenzione hanno la struttura:



inclusi suoi enantiomeri, diastereoisomeri, idrati, solvati, sali farmaceuticamente accettabili e complessi, in cui:

R₂₃ è selezionato dal gruppo consistente in H, CH₃, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₃, CH₂CCH₃, CH(CH₃)₂, CH₂CH(CH₃)₂, CH(CH₃)CH₂CH₃, CH₂OH, CH₂OCH₂Ph, CH₂CH₂OCH₂Ph, CH(OH)CH₃, CH₂Ph, CH₂(cicloesile), CH₂(4-OH-Ph), (CH₂)₄NH₂, (CH₂)₃NHC(NH₂)NH, CH₂(3-indolo), CH₂(5-imidazolo), CH₂CO₂H, CH₂CH₂CO₂H, CH₂CONH₂, e CH₂CH₂CONH₂.

Un profarmaco preferito di riluzolo ha la seguente formula:



Coloro esperti nell'arte riconosceranno che possono essere preparati profarmaci simili o modificati.

ESEMPIO

Il seguente esempio illustra l'invenzione e non è inteso per limitare l'ambito dell'invenzione.

In questo esempio, gli effetti della combinazione di un modulatore di glutammato, BHV-4157, in combinazione con un agente immunoterapeutico, anti-PD-1, sono stati confrontati con ogni agente solo in un modello di glioma come descritto sostanzialmente in Zeng, J., et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys., 1 Giugno 2013; 86(2):343-349, di cui sono riprodotte porzioni sotto.

5 Cellule

Cellule GL261-Luc sono state fatte crescere in Terreno di Eagle Modificato da Dulbecco (DMEM) + 10% di siero fetale bovino + 1% di penicillina/streptomina a 37°C in un incubatore umidificato mantenuto al 5% di CO₂ e 5% di O₂ (Gibco).

Modello Tumorale

10 Topi C57BL/6J femmina (Harlan), di età da 4 a 6 settimane o da 6 a 8 settimane sono stati usati per esperimenti di glioma ortopico, come descritto in Sonabend AM, Velicu S, Ulasov IV, et al. A safety and efficacy study of local delivery of interleukin12 transgene by PPC polymer in a model of experimental glioma. Anticancer Drugs. 2008;19:133-142. Per consolidare gliomi singenici, 130.000 cellule GL261-Luc sono state iniettate in modo stereotattico in un volume di 1µL nello striato sinistro per 1 minuto nelle seguenti coordinate: 1 mm anteriore, 1 mm laterale rispetto al bregma e 3 mm di profondità dalla superficie corticale. Il carico tumorale è stato monitorato mediante resa in immagini con luciferasi nei giorni 7, 21 e 35 dopo impianto e i topi sono stati assegnati casualmente in bracci di trattamento sulla radianza tumorale, così che la radianza tumorale media in ciascun gruppo fosse abbastanza equivalente. Gli animali sono stati sottoposti ad eutanasia quando hanno mostrato segni predeterminati di deficit neurologici (incapacità di deambulare, perdita di peso >20% di massa corporea, letargia, postura curva). Il tasso di attecchimento del tumore era del 100%. Ogni braccio ha da 6 a 10 topi in esperimenti di sopravvivenza. Tutti gli esperimenti sono stati ripetuti almeno in triplicato.

20 Anticorpi anti-PD-1

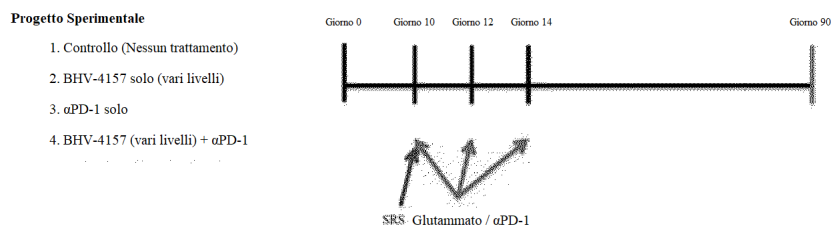
Ibridomi G4 di criceto produttori anticorpi monoclonali anti-PD-1 di topo in criceto sono stati usati per produrre anticorpi come descritto in Hirano F, Kaneko K, Tamura H, et al. Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity. Cancer Res. 2005;65:1089-1096.

25 Protocollo specifico

A topi C57BL/6J femmina, di età da 4 a 6 settimane, sono stati impiantati a livello intracranico nello striato sinistro, ogni volta con 130.000 cellule GL261. I topi sono stati alloggiati e mantenuti in accordo con il protocollo del Institutional Animal Care and Use Committee presso Johns Hopkins University Animal Facility. I topi sono stati visualizzati mediante resa in immagini a bioluminescenza IVIS® (Perkin Elmer) nei giorni 7, 21 e 35 per valutare il carico tumorale e sono stati assegnati casualmente a gruppi, 10 topi per braccio, come segue:

1. Controllo
2. anti-PD-1
3. Trigriluzolo 15 mg/kg
4. Trigriluzolo 30 mg/kg
5. Trigriluzolo 45 mg/kg
6. anti-PD-1 + Trigriluzolo 15 mg/kg
7. anti-PD-1 + Trigriluzolo 30 mg/kg
8. anti-PD-1 + Trigriluzolo 45 mg/kg

Il protocollo è mostrato nella seguente illustrazione:



Il giorno 0 rappresenta la data di impianto intracranico. Il braccio di controllo 1 non ha ricevuto alcun trattamento. Il braccio di controllo 2 ha ricevuto α PD-1 solo ad una dose di 200 μ g/animale tramite iniezione intraperitoneale nei giorni 10, 12, 14. I bracci di controllo 3, 4 e 5 hanno ricevuto BHV-4157 solo in dosi di 15, 30 e 45 mg/kg (rispettivamente) tramite iniezione intraperitoneale quotidianamente a partire dal giorno 10. I bracci di controllo 6, 7 e 8 hanno ricevuto BHV-4157 in dosi di 15, 30 e 45 mg/kg (rispettivamente) tramite iniezione intraperitoneale

quotidiana a partire dal giorno 10 e α PD-1 ad una dose di 200 μ g/animale tramite iniezione intraperitoneale nei giorni 10, 12, 14.

Il trattamento è stato terminato quando i topi non mostravano alcun carico tumorale tramite resa in immagini IVIS. Gli animali sono stati sottoposti ad eutanasia in accordo con punti finali umani, inclusi disturbi del sistema nervoso centrale, postura curva, letargia, perdita di peso e incapacità di deambulare.

Lo scopo dell'esperimento era quello di vedere se la terapia combinatoria fornisse un beneficio rispetto ad ogni terapia sola. I risultati sono mostrati in Figura 1. Come evidente dalla Figura 1, la terapia combinatoria è sostanzialmente migliore rispetto a qualsiasi delle singole terapie e gli effetti non sono semplicemente additivi, ma sembrano essere sinergici. Pertanto, sembra che l'effetto dei modulatori di glutammato sul metabolismo di glutammato/glutamina indebolisca le cellule tumorali e renda l'anticorpo anti-PD-1 più efficace. Abbastanza sorprendentemente, in accordo con la presente invenzione, la sopravvivenza in percentuale di topi circa 30, 40 e 60 giorni dopo l'impianto era circa 2 volte o più la sopravvivenza in percentuale per i topi trattati con il modulatore di glutammato in combinazione con l'agente anti-cancro immunoterapeutico a confronto con l'agente anti-cancro immunoterapeutico solo. La Tabella 1 sotto mostra i dati dell'Esempio 1.

TABELLA 1

SOPRAVVIVENZA IN PERCENTUALE DI TOPI DOPO L'IMPIANTO DEL TUMORE								
	Braccio 1	Braccio 2	Braccio 3	Braccio 4	Braccio 5	Braccio 6	Braccio 7	Braccio 8
Giorni dopo l'Impianto del Tumore	Controllo	PD-1	BHV- 4157 15 mg/kg	BHV- 4157 30 mg/kg	BHV- 4157 45 mg/kg	PD-1 +BHV- 4157 15 mg/kg	PD-1 +BHV- 4157 30 mg/kg	PD-1 +BHV- 4157 45 mg/kg
0	100	100	100	100	100	100	100	100
18	80							

19	70							
20	40					90		
21	30		90	90	90			
22		90	80		80			
23	20	80	70	70	70			
24	10		50	50	60			90
25		70			50	80	80	
26	0	50	30	30			70	
27		40	20		20	70		
28		30	10		10			
29				20	0	60		
30								80
34				10			60	
36			0					
43								70
60		30		10		60	60	70

5 Il termine "Tasso di Sopravvivenza di Topi", a cui si fa riferimento anche come "MSR_x", è riferito ad un valore calcolato dividendo: (i) la sopravvivenza in percentuale di topi trattati con un agente anti-cancro immunoterapeutico più un agente modulante il glutammato per (ii) la percentuale di sopravvivenza di topi trattati con un agente anti-cancro immunoterapeutico solo, in accordo con la procedura esposta nell'Esempio 1 qui in un periodo di tempo "x" numeri di giorni dopo l'impianto del tumore nei topi. Pertanto, MSR₆₀ è riferito al Tasso di Sopravvivenza di Topi in un tempo di 60 giorni dopo l'impianto del tumore.

Dalla Tabella 1, può essere visto che entro il giorno 26, i topi nel Braccio 1 (Controllo) aveva una sopravvivenza dello 0%, i topi nel Braccio 2 (PD-1) avevano una sopravvivenza del 50% e i topi nei Bracci 6, 7 e 8 avevano una sopravvivenza almeno dal 70 all'80%. Di conseguenza, il giorno 26, il Tasso di Sopravvivenza di Topi (MSR_{26}) era di circa da 1,4 a 1,6 (ovvero 70/50 e 80/50). Il giorno 28, i topi nel Braccio 1 (Controllo) aveva una sopravvivenza dello 0%, i topi nel Braccio 2 (PD-1) avevano una sopravvivenza del 30% e i topi nei Bracci 6, 7 e 8 avevano una sopravvivenza almeno dal 60 all'80%. Di conseguenza, il giorno 28, il Tasso di Sopravvivenza di Topi (MSR_{28}) era di circa da 2,0 a 2,6 (ovvero 60/30 e 80/30). Il giorno 60, i topi nel Braccio 1 (Controllo) aveva una sopravvivenza dello 0%, i topi nel Braccio 2 (PD-1) avevano una sopravvivenza del 30% e i topi nei Bracci 6, 7 e 8 avevano una sopravvivenza dal 60 al 70%. Di conseguenza, il giorno 60, il Tasso di Sopravvivenza di Topi (MSR_{60}) era di circa da 2,0 a 2,3 (ovvero 60/30 e 70/30). Preferibilmente, il Tasso di Sopravvivenza di Topi è di almeno 1,4, più preferibilmente di almeno 1,6 quando misurato 26 giorni dopo l'impianto del tumore (MSR_{26}). Preferibilmente, il Tasso di Sopravvivenza di Topi è di almeno 2,0, più preferibilmente di almeno 2,6 quando misurato 28 giorni dopo l'impianto del tumore (MSR_{28}). Preferibilmente, il Tasso di Sopravvivenza di Topi è di almeno 2,0, più preferibilmente di almeno 2,3 quando misurato 60 giorni dopo l'impianto del tumore (MSR_{60}). Preferibilmente, il Tasso di Sopravvivenza di Topi misurato in un momento nel quale i topi non trattati raggiungevano il 0% di sopravvivenza o successivamente fino ad un momento di 60 giorni dopo l'impianto tumorale, è almeno 1,4, almeno 1,6, almeno 2,0, almeno 2,3 o almeno 2,6.

Tipicamente, la terapia combinatoria, ovvero un inibitore di checkpoint e il profarmaco di riluzolo, in accordo con la presente invenzione fornirà un Tasso di Sopravvivenza di Topi è almeno 2,0, più tipicamente almeno 2,3 (misurato il giorno 60, MSR_{60}).

I risultati sono mostrati in Figura 1. Come evidente dalla Figura 1, la terapia combinatoria è sostanzialmente migliore rispetto a qualsiasi delle singole terapie e gli effetti non sono semplicemente additivi, ma sembrano essere sinergici. Pertanto, sembra che l'effetto del profarmaco di riluzolo sul metabolismo di glutammato/glutamina indebolisca le cellule tumorali e renda anti-PD-1 più efficace.

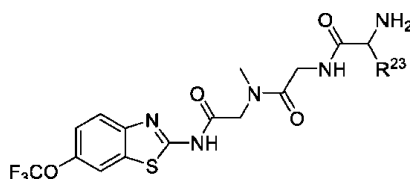
E' stato mostrato che una varietà di malignità solide sovraesprimono la glutaminasi fosfato-dipendente (GLS), che converte glutamina a dare glutammato, sottolineando ulteriormente il ruolo di glutamina nel metabolismo del

5 cancro. Tuttavia, il glutammato è una riserva chiave di "scarti" di azoto ed è importante in una varietà di vie metaboliche cellulari. Come tale, la riduzione dei livelli di glutammina/glutammato in cellule immunitarie può ridurre la funzione proliferativa ed effettrice, limitando una risposta antitumorale mediata dal sistema immunitario. Sebbene questo effetto sia chiaro per cellule tumorali che producono GLS, i recettori per il glutammato si trovano su un numero di altre cellule tumorali e si ritiene che questa terapia combinatoria sarebbe efficace anche per tali cellule.

Coloro esperti nell'arte riconosceranno o saranno in grado di valutare usando non più di una sperimentazione di routine numerosi equivalenti alle procedure specifiche descritte qui.

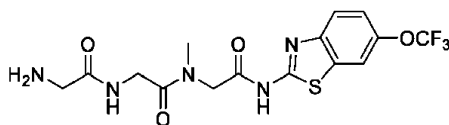
Rivendicazioni

1. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso nel trattamento di un cancro, in cui il profarmaco di riluzolo è un composto avente la seguente formula:



- 5 o un suo enantiomero, diastereoisomero, idrato, solvato, sale farmaceuticamente accettabile o complesso;
in cui R²³ è selezionato dal gruppo consistente in H, CH₃, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₃, CH₂CCH, CH(CH₃)₂, CH₂CH(CH₃)₂, CH(CH₃)CH₂CH₃, CH₂OH, CH₂OCH₂Ph, CH₂CH₂OCH₂Ph, CH(OH)CH₃, CH₂Ph, CH₂(cicloesile), CH₂(4-OH-Ph), (CH₂)₄NH₂, (CH₂)₃NHC(NH₂)NH, CH₂(3-indolo), CH₂(5-imidazolo), CH₂CO₂H, CH₂CH₂CO₂H, CH₂CONH₂, e CH₂CH₂CONH₂.
- 10 2. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui il profarmaco di riluzolo e l'inibitore di checkpoint sono somministrati contemporaneamente o in sequenza nel tempo.
3. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui l'inibitore di checkpoint ha come bersaglio PD-1 o PD-L1.
4. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo la rivendicazione 3, in cui l'inibitore di
- 15 checkpoint ha come bersaglio PD-1.
5. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui l'inibitore di checkpoint è selezionato dal gruppo consistente in nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab, ipilimumab, PDR001, MEDI0680, atezolizumab, durvalumab e loro combinazioni.
- 20 6. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo la rivendicazione 5, in cui l'inibitore di checkpoint è una combinazione di inibitori di checkpoint selezionati dal gruppo consistente in nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab, ipilimumab, PDR001, MEDI0680, atezolizumab e durvalumab.

7. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui il profarmaco di riluzolo e l'inibitore di checkpoint sono somministrati in combinazione o in sequenza con altri trattamenti anti-cancro standard di cura.
8. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui l'inibitore di checkpoint comprende un anti-PD1 o un anti-PD-L1 e il cancro è glioblastoma.
9. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui l'inibitore di checkpoint comprende un anti-PD1 o un anti-PD-L1 e il cancro è melanoma.
10. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui l'inibitore di checkpoint comprende un anti-PD1 o un anti-PD-L1 e il cancro è Linfoma correlato con AIDS, Linfoma Primario del SNC, Linfoma di Burkitt, Linfoma Non-Hodgkin, Linfoma Primario, Linfoma Cutaneo a Cellule T, Linfoma di Hodgkin, Linfoma Primario del Sistema Nervoso Centrale (SNC) e Linfoma a Cellule T.
11. Profarmaco di riluzolo ed inibitore di checkpoint per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il profarmaco di riluzolo è:



- 15 o un suo idrato, solvato, sale farmaceuticamente accettabile o complesso.

Il sottoscritto dichiara che la presente traduzione è conforme al testo originale.

- 20 D.ssa Federica TRUPIANO (USBM-CPI-026 BM)

