



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019023944-8 A2



(22) Data do Depósito: 15/05/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 09/06/2020

(54) Título: COMBINAÇÃO FARMACÊUTICA PARA O TRATAMENTO DE UM CÂNCER

(51) Int. Cl.: A61K 31/201; A61K 31/337; A61K 31/555; A61K 31/7068; A61K 33/24; (...).

(30) Prioridade Unionista: 16/05/2017 EP 17382282.6.

(71) Depositante(es): ABILITY PHARMACEUTICALS S.L..

(72) Inventor(es): CARLES DOMÈNECH GARCIA; JOSÉ ALBERTO ALFÓN CORIAT; HÉCTOR PÉREZ MONTOYO; MIGUEL FRANCISCO SEGURA GINARD; JOSE MIGUEL LIZCANO DE VEGA.

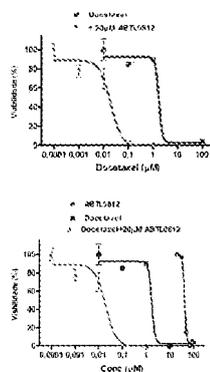
(86) Pedido PCT: PCT EP2018062554 de 15/05/2018

(87) Publicação PCT: WO 2018/210830 de 22/11/2018

(85) Data da Fase Nacional: 13/11/2019

(57) Resumo: Trata-se de uma combinação farmacêutica compreendendo (A): um ácido graxo poli-insaturado e (B): um composto quimioterápico para o uso simultâneo, separado ou sequencial no tratamento de um câncer em um paciente humano.

Figura 1



“COMBINAÇÃO FARMACÊUTICA PARA O TRATAMENTO DE UM CÂNCER”

CAMPO DE INVENÇÃO

[0001] A presente invenção refere-se a uma combinação farmacêutica compreendendo (A): um ácido graxo poli-insaturado e (B): um composto de agente quimioterápico para o uso simultâneo, separado ou sequencial no tratamento de um câncer em um paciente humano.

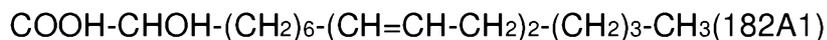
TÉCNICA ANTERIOR

[0002] O documento EP2409963B1 (Lipopharma – depositado em 2010) descreve o uso de 1,2-derivados de compostos de ácidos graxos poli-insaturados (denominados D-PUFAs) para o tratamento de câncer.

[0003] Os compostos derivados de ácidos graxos descritos têm a seguinte fórmula:



[0004] Um exemplo de um composto preferencial é:



[0005] O artigo “Erazo, et al.; Clinical Cancer Research; 22(10) 15 de maio de 2016” descreve o composto acima referido (182A1) em mais detalhes - no artigo este composto é denominado “ABTL0812” e esse termo é utilizado no presente documento.

[0006] O artigo descreve que o ABTL0812 induz a morte celular de câncer mediada por autofagia sem ativar a apoptose celular. O artigo diz:

[0007] [p2515]:

[0008] “A maioria dos tratamentos anticâncer atuais ativam a apoptose e a resistência à quimioterapia é um grande desafio no câncer (24). A morte celular mediada por autofagia surgiu como uma alternativa para matar células cancerígenas sem induzir resistência a fármacos indutores de apoptose (25)”.

[0009] [p2517]:

[0010] “Por outro lado, a ativação de mTORC1 está frequentemente associada à resistência a fármacos antitumorais (6). Como o ABTL0812 é um potente inibidor do eixo geométrico Akt/mTORC1, sua administração em combinação com fármacos quimioterápicos padrão pode ser eficaz em tumores refratários resistentes à terapia ou à apoptose”.

[0011] Na data de depósito do presente pedido - a página da Web do presente requerente (AbilityPharma - www.abilitypharma.com) incluía uma seção Notícias (todos os inventores do presente pedido atribuíram todos os direitos relevantes no presente documento ao requerente do presente pedido e o pedido de prioridade EP17382282.6 datado de 16 de maio de 2017 - dito em outras palavras, a publicação da página da web abaixo discutida do presente requerente pode ser considerada a chamada “divulgação originada pelo inventor” - (ou seja, o objeto da divulgação pública deve ser atribuível ao inventor, a um ou mais coinventores ou a outro que tenha obtido o objeto direta ou indiretamente do inventor ou de um coinventor).

[0012] A seção Notícias de 22 de novembro de 2016 diz:

[0013] “A empresa biofarmacêutica catalã Ability Pharmaceuticals, SL anunciou hoje o início de seu primeiro ensaio clínico de fase 2 com seu novo agente anticâncer direcionado ABTL0812 para avaliar sua eficácia e segurança em combinação com paclitaxel e carboplatina em 80 pacientes com câncer endometrial avançado ou recorrente ou câncer de pulmão escamoso como terapia de primeira linha (...)

[0014] Nos modelos pré-clínicos de câncer, o ABTL0812 é eficaz como agente único com um excelente perfil de segurança em um amplo espectro de tipos de câncer: câncer de pulmão, endometrial, do pâncreas e neuroblastoma. Nesses modelos, o composto também tem efeito sinérgico com a quimioterapia (taxanos, compostos de platina e gencitabina) sem aumentar sua toxicidade”.

[0015] A seção Notícias datada de 14 de dezembro de

2016 diz:

[0016] “Em estudos pré-clínicos, o ABTL0812 demonstrou eficácia no câncer de pâncreas como agente único e efeito sinérgico (8 a 90 vezes) em combinação com taxanos, compostos de platina e gencitabina, com indução da regressão tumoral sem aumentar a toxicidade associada à quimioterapia (...)

[0017] Atualmente, o ABTL0812 está na fase 2 como terapia de primeira linha em combinação com quimioterapia em pacientes com câncer de pulmão endometrial ou escamoso”.

[0018] Com relação ao uso do composto ABTL0812 em combinação com outros agentes quimioterápicos - o artigo Erazo acima mencionado e as Notícias publicadas pelo requerente (AbilityPharma) não divulgam nenhum dado experimental significativo - ou seja, as declarações relacionadas à combinação podem ser vistas como meras declarações que não são suportadas por nenhum dado experimental verificável significativo.

[0019] As Notícias publicadas se referem aos estudos de fase II - como é conhecido na técnica, o fato de os estudos de fase II estarem em andamento significa que os estudos de fase I estão concluídos e, a partir dessas informações, o indivíduo versado só pode concluir que os resultados sobre segurança e tolerabilidade em humanos, bem como os estudos farmacocinéticos, foram positivos - ou seja, isso não fornece informações sobre um possível efeito terapêutico em pacientes humanos, em particular sobre qualquer possível efeito sinérgico da combinação. O indivíduo versado na técnica só conhece após a conclusão dos ensaios de fase II uma avaliação dos resultados se o fármaco é terapeuticamente eficaz - na data de depósito do presente pedido não foram publicados quaisquer dados experimentais relevantes aqui derivados de ensaios de fase II.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0020] O problema a ser resolvido pela presente invenção é fornecer um tratamento melhorado do câncer.

[0021] Como discutido acima, o composto $\text{COOH-CHOH-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ é aqui designado ABTL0812.

[0022] Os exemplos de trabalho aqui apresentados fornecem numerosos dados experimentais detalhados que demonstram efeito sinérgico significativo em relação ao uso do composto ABTL0812 discutido acima em combinação com outros agentes quimioterápicos.

[0023] Como discutido em mais detalhes aqui - os dados experimentais fornecidos no presente documento são baseados em testes experimentais estabelecidos *in vitro* e *in vivo* (por exemplo, em camundongos) – em conformidade, com base nos dados experimentais fornecidos aqui, é plausível/credível que os efeitos sinérgicos relevantes aqui possam ser obtidos em pacientes humanos com câncer.

[0024] O Exemplo 4 no presente documento discute os resultados preliminares já obtidos de ensaios críticos em humanos - os ensaios clínicos em humanos já obtidos são positivos no sentido de que esses resultados indicam que também em humanos há um efeito sinérgico em relação ao uso do composto ABTL0812 em combinação com paclitaxel e carboplatina em pacientes com câncer endometrial avançado ou câncer de células escamosas.

[0025] Com base no conhecimento da técnica anterior, o indivíduo versado não poderia ter previsto com uma expectativa razoável de sucesso os efeitos sinérgicos significativos aqui descritos experimentalmente.

[0026] Como discutido acima com relação às divulgações de páginas da web do presente requerente (AbilityPharma) - as declarações relacionadas à combinação nessas divulgações de páginas da web podem ser vistas como meras declarações que não são suportadas por dados experimentais verificáveis significativos - é evidente que, com base nessas divulgações de páginas da web não era plausível/credível que aqui efeitos sinérgicos relevantes possam ser obtidos em pacientes humanos com câncer.

[0027] Em resumo, os exemplos de trabalho aqui demonstrados, entre outros problemas, são os seguintes:

Exemplo 1: - Experimentos *in vitro*:

[0028] 1.1: ABTL0812 e docetaxel têm efeito sinérgico *in vitro* em uma linha celular representativa de adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas, onde o ABTL0812 reduziu em mais de 80 vezes a IC₅₀ de docetaxel - ou seja, uma citotoxicidade de docetaxel drasticamente aumentada;

[0029] 1.2: ABTL0812 e paclitaxel têm efeito sinérgico *in vitro* em 4 linhas celulares diferentes de carcinoma do pulmão, onde ABTL0812 reduziu a IC₅₀ do paclitaxel na faixa de 2 a 7 vezes, dependendo da linha celular, ou seja, uma citotoxicidade do paclitaxel aumentada;

[0030] 1.3: ABTL0812 e gencitabina têm efeitos sinérgicos *in vitro* em uma linha celular representativa de câncer do pâncreas, onde ABTL0812 reduziu em 7 vezes a IC₅₀ de gencitabina - ou seja, uma citotoxicidade de gencitabina drasticamente aumentada;

[0031] 1.4: ABTL0812 e carboplatina têm efeitos sinérgicos *in vitro* em uma linha celular representativa de câncer do endométrio, onde ABTL0812 reduziu em 3 vezes a IC₅₀ de carboplatina - ou seja, uma citotoxicidade de carboplatina aumentada;

[0032] 1.5: ABTL0812 e ácido retinoico têm efeitos sinérgicos *in vitro* em uma linha celular representativa de câncer de neuroblastoma;

[0033] 1.6: ABTL0812 e paclitaxel têm efeitos sinérgicos *in vitro* em uma linha celular representativa de câncer de mama, onde ABTL0812 reduziu em três vezes a IC₅₀ de paclitaxel - ou seja, uma citotoxicidade do paclitaxel aumentada.

Exemplo 2: - Experimentos *in vivo*:

[0034] 2.1: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo*, doses baixas de ABTL0812 potenciaram a atividade antitumoral do câncer de pulmão de Docetaxel sem efeito tóxico negativo.

[0035] 2.2: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo*, a combinação do tratamento com ABTL0812 + paclitaxel e carboplatina (P/C) mostrou aumento significativo na taxa de sobrevivência em um modelo de câncer de células escamosas (SCC), com 75% de sobrevivência em 20 dias após tratamentos e compartimentou com sobrevivência de 0% no ABTL0812 e veículo e sobrevivência de 25% no grupo P/C.

[0036] 2.3: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo*, a combinação ABTL0812 + P/C mostrou um efeito sinérgico versus o efeito de cada fármaco isoladamente em relação a um câncer de pulmão de adenocarcinoma, pois foi observada uma redução significativa no volume do tumor em animais tratados com a combinação versus animais de controle e animais tratados com quimioterapia;

[0037] 2.4: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo*, a combinação ABTL0812 + pemetrexede e cisplatina mostrou um efeito sinérgico versus o efeito da quimioterapia isolada em relação a um câncer de pulmão de adenocarcinoma, uma vez que foi observada uma redução significativa do volume tumoral em animais tratados com a combinação versus animais de controle e animais tratados com quimioterapia;

[0038] 2.5: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo*, a combinação ABTL0812 + paclitaxel mostrou um efeito sinérgico versus o efeito de cada fármaco isoladamente em relação ao câncer endometrial, uma vez que foi observada uma redução significativa no volume do tumor em animais tratados com a combinação versus animais de controle;

[0039] 2.6: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo* de um xenoenxerto derivado de um paciente, a combinação ABTL0812 + P/C mostrou um efeito sinérgico em relação ao câncer endometrial, mostrando uma redução significativa do volume do tumor em comparação com a P/C, o que também mostra uma significativa redução de volume tumoral em comparação com o grupo de veículo durante os primeiros 47 dias;

[0040] 2.7: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo*, a combinação ABTL0812 + Paclitaxel/Gencitabina mostrou um efeito sinérgico em relação ao câncer de pâncreas, mostrando uma redução significativa no volume do tumor em comparação com P/Gm sozinho. P/Gm também mostrou uma redução maior no volume do tumor em comparação com o veículo;

[0041] 2.8: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo*, a combinação ABTL0812 + Nab-Paclitaxel/Gencitabina mostrou um efeito sinérgico em relação ao câncer de pâncreas, mostrando uma redução significativa do volume do tumor em comparação com o Nab-P/Gm sozinho. Nab-P/Gm também mostrou uma redução maior no volume do tumor em comparação com o veículo;

[0042] 2.9: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo*, a combinação ABTL0812 + cisplatina mostrou um efeito sinérgico em relação ao câncer de neuroblastoma, onde a combinação de ABTL0812 com cisplatina resulta em estabilização da progressão do tumor por um período mais longo;

[0043] 2.10: Em um modelo representativo de camundongos *in vivo*, a combinação ABTL0812 + doxorubicina mostrou um efeito sinérgico em relação ao câncer de mama, onde a combinação de ABTL0812 com paclitaxel mostrou uma maior redução no volume do tumor em comparação com o veículo.

[0044] Os dados experimentais fornecidos neste documento são baseados em testes experimentais estabelecidos *in vitro* e *in vivo* (por exemplo, em camundongos) - portanto, com base nos dados experimentais aqui fornecidos, é plausível/credível que efeitos sinérgicos relevantes possam ser obtidos em pacientes humanos com câncer.

[0045] Exemplos de agentes quimioterápicos testados nos exemplos de trabalho no presente documento incluem:

[0046] Taxanos: Paclitaxel (Taxol), Nab-Paclitaxel

(Paclitaxel ligado à albumina) e docetaxel;

[0047] Agentes à base de platina: carboplatina e cisplatina;

[0048] Análogos de nucleotídeos e análogos de precursores: gencitabina;

[0049] Antimetabólitos de folato: Pemetrexede;

[0050] Antraciclinas: Doxorrubicina;

[0051] Por conseguinte, diferentes grupos/classes de agentes quimioterápicos foram testados e para todos foram demonstrados efeitos sinérgicos significativos quando utilizados em combinação com o composto ABTL0812.

[0052] Com base nos dados experimentais aqui fornecidos, é plausível que aqui seja possível obter um efeito sinérgico positivo pela maioria dos agentes quimioterápicos relevantes.

[0053] Como discutido acima, a maioria dos tratamentos anticâncer atuais ativam a apoptose e todos os outros agentes quimioterápicos testados acima ativam a apoptose.

[0054] O ABTL0812 induz a morte celular de câncer mediada por autofagia sem ativar a apoptose celular. Os dados experimentais aqui fornecidos demonstram que o ABTL0812 em combinação com quimioterápicos surpreendentemente pode aumentar o nível de apoptose, mesmo que não seja o mecanismo básico do ABTL0812.

[0055] Os dados experimentais aqui fornecidos demonstraram para um agente quimioterápico (por exemplo, Docetaxel) essencialmente o seguinte:

[0056] Docetaxel em quantidade que proporciona 100% de efeito terapêutico => resulta em uma toxicidade de Y.

[0057] Docetaxel em quantidade que proporciona 50% de efeito terapêutico => resulta em uma toxicidade reduzida.

[0058] O docetaxel em uma quantidade que

proporciona 50% de efeito terapêutico + ABTL0812 em uma quantidade que proporciona 50% de efeito terapêutico => resulta em um efeito 100% e a toxicidade é mantida no mesmo nível reduzido.

[0059] Foi surpreendente para os presentes inventores que, combinando com ABTL0812, foi possível aumentar significativamente o efeito de um agente quimioterápico (por exemplo, Docetaxel) sem aumentar significativamente a toxicidade.

[0060] O composto ABTL0812 é estrutural e funcionalmente semelhante aos outros 1,2-derivados de compostos de ácidos graxos poli-insaturados (D-PUFA), como descrito no documento EP2409963B1 acima discutido.

[0061] Por conseguinte, à primeira vista, é plausível que substancialmente todos os compostos derivados de ácidos graxos do documento EP2409963B1 tenham um efeito sinérgico relevante aqui em combinação com um agente quimioterápico.

[0062] Por conseguinte, um primeiro aspecto da invenção refere-se a uma combinação farmacêutica compreendendo:

[0063] (A): um composto que é um ácido graxo poli-insaturado de fórmula $\text{COOR}_1\text{-CHR}_2\text{-(CH}_2\text{)}_a\text{-(CH=CHCH}_2\text{)}_b\text{-(CH}_2\text{)}_c\text{-CH}_3$, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma combinação dos mesmos, em que

- (i) **a** pode ser qualquer valor inteiro entre 0 e 7,
- (ii) **b** pode ser qualquer valor inteiro entre 2 e 7,
- (iii) **c** pode ser qualquer valor inteiro entre 0 e 7,
- (iv) **R**₁ é H, Na, K, CH₃, CH₃-CH₂ ou PO(O-CH₂-CH₃)₂, e
- (v) **R**₂ representa OH, OCH₃, COOH, CH₃, Cl, CH₂OH, OPO(OCH₂CH₃)₂, NOH, F, HCOO ou N (OCH₂CH₃)₂;

[0064] e

[0065] (B): um composto agente quimioterápico

[0066] para o uso simultâneo, separado ou sequencial

no tratamento de um câncer em um paciente humano.

[0067] Como entendido pelo indivíduo versado no presente contexto - o agente quimioterápico do Composto (B) do primeiro aspecto não é obviamente um composto dentro do escopo do Composto (A) do primeiro aspecto.

[0068] Como entendido pelo indivíduo versado no presente contexto - em relação ao tratamento combinado aqui discutido, não é essencial se os dois compostos (A) e (B) forem administrados, por exemplo, simultaneamente como uma composição única ou, por exemplo, sequencialmente como duas composições separadas. A questão importante é que uma quantidade eficaz do composto/agente administrado pela primeira vez está no corpo do paciente quando o segundo composto/agente é administrado.

[0069] Por conseguinte, o termo "combinação" do primeiro aspecto refere-se aqui às várias combinações de compostos (A) e (B), por exemplo, em uma única composição farmacêutica, em uma mistura combinada composta de formulações/composições farmacêuticas separadas dos únicos compostos ativos, como uma "mistura de tanque", e em um uso combinado dos ingredientes ativos únicos quando aplicados de maneira sequencial, isto é, um após o outro com um período razoavelmente curto, como algumas horas ou dias ou em administração simultânea. A ordem de aplicação dos compostos (A) e (B) não é essencial.

[0070] Uma combinação dos compostos (A) e (B) pode ser formulada para sua administração simultânea, separada ou sequencial. Particularmente, se a administração não for simultânea, os compostos são administrados em uma proximidade de tempo relativamente próxima um do outro. Além disso, os compostos são administrados na mesma ou diferente forma de dosagem ou pela mesma ou diferente via de administração, por exemplo, um composto pode ser administrado topicamente e o outro composto pode ser administrado por via oral. A combinação dos dois compostos pode, por exemplo, ser administrada:

[0071] - como uma combinação que faz parte da mesma formulação de fármaco, os dois compostos sendo então administrados sempre simultaneamente;

[0072] - como uma combinação de duas unidades/composições, cada uma com uma das substâncias que dão origem à possibilidade de administração simultânea, sequencial ou separada;

[0073] Por exemplo, o Composto (A) é administrado independentemente a partir do Composto (B) (isto é, em duas unidades), mas ao mesmo tempo.

[0074] Em outro exemplo adequado, o Composto (A) é administrado primeiro e, em seguida, o Composto (B) é administrado separadamente ou sequencialmente - alternativamente, o Composto (B) é administrado primeiro e, em seguida, o Composto (A) é administrado separadamente ou sequencialmente.

[0075] O termo "farmacêutico", por exemplo, em relação a uma "composição farmacêutica" deve ser entendido de acordo com a técnica - ou seja, que se refere a uma preparação/composição que esteja em tal forma que permita que a atividade biológica dos ingredientes ativos seja eficaz, e fisiologicamente tolerável, isto é, que não contém componentes adicionais que sejam inaceitavelmente tóxicos para um sujeito ao qual a composição seria administrada. Particularmente, o termo "farmaceuticamente aceitável" significa que ele é aprovado por uma agência reguladora de um governo estadual ou federal ou está incluído na Farmacopeia dos EUA ou em outra farmacopeia geralmente reconhecida para uso em animais e, mais particularmente, em humanos.

[0076] A modalidade da presente invenção é descrita abaixo, apenas a título de exemplos.

[0077] Uma combinação de uma modalidade preferencial aqui descrita com outra modalidade preferencial aqui descrita é uma modalidade ainda mais preferencial.

DESENHOS

[0078] Figura 1: ABTL0812 mostra sinergia *in vitro* com docetaxel na linha celular de adenocarcinoma de pulmão humano A549. Citotoxicidade de ABTL0812, docetaxel e a combinação de ambos os fármacos. Uma potenciação da citotoxicidade de docetaxel pode ser observada, quanto a sua IC₅₀ foi reduzida 86 vezes quando uma baixa concentração (cerca de metade da sua IC₅₀) de ABTL0812 foi adicionada. Os resultados mostram a média de duas experiências independentes. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0079] Figura 2: ABTL0812 mostra sinergia *in vitro* com paclitaxel nas linhas celulares de adenocarcinoma de pulmão humano A549 e H1975 e nas linhas celulares de câncer de pulmão escamoso humano H157 e HTB182. Citotoxicidade de ABTL0812, paclitaxel e a combinação de ambos os fármacos nas quatro linhas celulares diferentes de câncer de pulmão. Uma potenciação da citotoxicidade do paclitaxel pode ser observada em todas as quatro linhas de células, como a sua IC₅₀ foi reduzida na faixa de 2 a 7 vezes, dependendo da linha de células quando foi adicionada uma concentração baixa (aproximadamente metade da sua IC₅₀) de ABTL0812. Os resultados mostram a média de duas experiências independentes para cada linha celular. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0080] Figura 3: ABTL0812 mostra sinergia *in vitro* com gencitabina na linha celular de câncer de pâncreas humano MiaPaca2. Citotoxicidade de ABTL0812, gencitabina e a combinação de ambos os fármacos. Uma potenciação da citotoxicidade de gencitabina pode ser observada na presença de ABTL0812, como a sua IC₅₀ foi reduzida em 7 vezes quando uma baixa concentração (cerca de metade da sua IC₅₀) de ABTL0812 foi adicionada. Os resultados mostram a média de duas experiências independentes. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0081] Figura 4: ABTL0812 mostra sinergia *in vitro* com carboplatina na linha celular de câncer endometrial humano de Ishikawa.

Citotoxicidade de ABTL0812, carboplatina e a combinação de ambos os fármacos. Uma potenciação da citotoxicidade de docetaxel pode ser observada, quanto a sua IC_{50} foi reduzida em 3 vezes quando uma baixa concentração (cerca de metade da sua IC_{50}) de ABTL0812 foi adicionada. Os resultados mostram a média de duas experiências independentes. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes

[0082] Figura 5: ABTL0812 mostra sinergia *in vitro* com ácido retinoico nas linhas celulares de neuroblastoma humano LAI-5S e SK-N-BE (2). Citotoxicidade de ABTL0812, ácido retinoico e a combinação de ambos os fármacos. Pode-se observar uma potencialização da citotoxicidade do ácido retinoico (AR) em ambas as linhas celulares, pois a viabilidade celular com AR foi reduzida de 82,8% para 23,8% na célula LAI-5S e de 70,4% para 34,7% na SK-N-BE (2) quando a AR foi incubada com uma baixa concentração (aproximadamente metade da sua IC_{30}) de ABTL0812. Os resultados mostram a média de duas experiências independentes. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0083] Figura 6: ABTL0812 mostra sinergia *in vitro* com paclitaxel na linha celular de câncer de mama humano triplo negativo MDA-DB-231. Citotoxicidade de ABTL0812, paclitaxel e a combinação de ambos os fármacos. Uma potenciação da citotoxicidade do paclitaxel pode ser observada, quanto a sua IC_{50} foi reduzida a 2,7 vezes quando as concentrações baixas (inferiores à sua IC_{50}) de ABTL0812 foram adicionadas. Os resultados mostram a média de duas experiências independentes. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0084] Figura 7: ABTL0812 mostra potenciação do efeito terapêutico de docetaxel sem toxicidade aumentada em um modelo de xenoinxerto de adenocarcinoma de pulmão humano A549 *in vivo*. Esquerda: Efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 com docetaxel no modelo de xenoinxerto de adenocarcinoma de pulmão humano a549, mostrando uma diminuição significativa no crescimento do tumor em comparação com os grupos

ABTL0812, docetaxel e veículo, os valores de p são medidos entre ABTL0812 + docetaxel versus docetaxel e veículo. Direita: Peso corporal total nos diferentes grupos de tratamento durante todo o período experimental. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0085] Figura 8: ABTL0812 mostra potenciação dos efeitos terapêuticos de paclitaxel/carboplatina (P/C), sem toxicidade aumentada em um modelo de xenoenxerto de câncer de pulmão escamoso humano H157 *in vivo*. Gráfico de Kaplan-Meier do xenoenxerto H157 tratado com ABTL0812, P/C, ABTL0812 + P/C e veículo, onde ABTL0812 + P/C mostra a maior taxa de sobrevivência. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0086] Figura 9: ABTL0812 mostra potenciação de efeitos terapêuticos P/C, sem toxicidade aumentada em um modelo de xenoenxerto de adenocarcinoma de pulmão humano H1975 *in vivo*. Esquerda: Efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 com P/C no modelo de xenoenxerto de adenocarcinoma de pulmão humano H1975, mostrando a maior redução de volume tumoral em comparação com grupos P/C, ABTL0812 ou veículo, os valores de p são medidos entre ABTL0812 + P/C versus P/C e versus veículo. Direita: Peso corporal total nos diferentes grupos de tratamento durante todo o período experimental. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0087] Figura 10: ABTL0812 mostra potenciação de efeitos terapêuticos pemetrexede e cisplatina, sem toxicidade aumentada em um modelo de xenoenxerto de adenocarcinoma de pulmão humano A549 *in vivo*. Esquerda: Efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 com pemetrexede e cisplatina que mostra uma diminuição significativa no crescimento do tumor em comparação com pemetrexede e grupos de cisplatina e veículo, os valores de p são medidos entre ABTL0812 + pemetrexede e cisplatina versus veículo. Direita: Peso corporal total nos diferentes grupos de tratamento durante todo o período experimental. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0088] Figura 11: ABTL0812 mostra a potenciação dos efeitos terapêuticos do paclitaxel, sem toxicidade aumentada em um modelo

de xenoenxerto de câncer de endométrio humano Ishikawa *in vivo* implantado ortotopicamente. Esquerda: os animais foram sacrificados após três semanas de tratamento, os tumores excisados e o volume do tumor determinado. Foi observada uma redução estatística significativa nos animais que receberam a combinação ABTL0812 + paclitaxel versus animais de controle que receberam apenas veículo; os valores de p são medidos entre ABTL0812 + paclitaxel versus veículo. Direita: Peso corporal total nos diferentes grupos de tratamento durante todo o período experimental. Ver o Exemplo de trabalho aqui para obter mais detalhes.

[0089] Figura 12: ABTL0812 mostra potenciação de efeitos terapêuticos de P/C, sem toxicidade aumentada, em um xenoenxerto derivado de paciente com câncer endometrial humano *in vivo*. Figura esquerda: Um pedaço de tumor removido cirurgicamente de um paciente com histologia serosa, grau IIC2, 100% de invasão miometrial e invasão de linfonodos pélvicos e aórticos e espaço vascular linfático e portando mutações no gene p53 e PI3KCA foi implantado em camundongos nus. ABTL0812 em combinação com P/C mostra redução significativa no tumor em comparação com P/C, ABTL0812 e veículo. Os valores da figura p são indicados na figura. Direita: O peso corporal total para os diferentes grupos de tratamento durante todo o período experimental é mostrado abaixo. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0090] Figura 13: ABTL0812 mostra potenciação de gencitabina e paclitaxel (Gm/P) sem toxicidade aumentada, em um modelo de xenoenxerto de câncer de pâncreas humano MiaPAca2 *in vivo* Esquerda: Efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 + Gem/P mostrando a maior redução de volume tumoral em comparação com Gm/P, ABTL0812 ou veículo, os valores de p são medidos entre ABTL0812 + gencitabina e paclitaxel versus gencitabina e paclitaxel, versus gencitabina e versus veículo. Direita: Peso corporal total nos diferentes grupos de tratamento durante todo o período experimental. Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0091] Figura 14: ABTL0812 mostra a potenciação de gencitabina sozinha (Gm) e a potenciação de gencitabina com Nab-Paclitaxel (Gm/Nab-P) sem toxicidade aumentada, em dois modelos *in vivo* de xenoenxerto de câncer de pâncreas humano MiaPAca2 à esquerda: Efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 + Gm/Nab-P mostrando a maior redução de volume tumoral em comparação com Gm/Nab-P, ABTL0812 ou veículo. Direita; efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 + Gm mostrando a maior redução de volume tumoral em comparação com Gm, ABTL0812 ou veículo, os valores de p são medidos entre ABTL0812 + Gm/Nab-P e ABTL0812 + Gm versus veículo. O peso corporal total para os diferentes grupos de tratamento durante todo o período experimental é mostrado abaixo. Ver o Exemplo de trabalho aqui para obter mais detalhes.

[0092] Figura 15: ABTL0812 mostra a potenciação do efeito terapêutico da cisplatina sem aumentar a toxicidade em um modelo de xenoenxerto de neuroblastoma humano SH-SY5Y *in vivo*. Esquerda: Efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 + cisplatina, mostrando a maior redução de volume tumoral em comparação com ABTL0812, cisplatina ou veículo. No dia 10, os animais no grupo de controle tiveram que ser sacrificados, paralelamente, metade dos animais nos grupos de tratamento também foram sacrificados, enquanto o restante foi estudado por um período mais longo. Esquerda: Peso do tumor no sacrifício após 10 dias de tratamento (p <0,05 pelo teste t). Ver o exemplo de trabalho aqui para mais detalhes.

[0093] Figura 16: ABTL0812 mostra potenciação dos efeitos terapêuticos da doxorubicina, sem toxicidade aumentada em um modelo de xenoenxerto humano triplo negativo para câncer de mama MDA-DB-231 *in vivo*. Esquerda: Efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 + doxorubicina mostrando a maior redução de volume tumoral em comparação com doxorubicina, ABTL0812 ou veículo, os valores de p são medidos entre ABTL0812 + doxorubicina versus veículo. Direita: Peso corporal total nos diferentes grupos de tratamento durante todo o período experimental. Ver o

Exemplo de trabalho aqui para obter mais detalhes.

[0094] Figura 17: ABTL0812 mostra potenciação dos efeitos terapêuticos de gencitabina e cisplatina (Gm/Cis), sem toxicidade aumentada em um modelo de xenoenxerto de colangiocarcinoma humano EGI-1 *in vivo*. Esquerda: O efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 + Gm/Cis mostrando a maior redução de volume do tumor em comparação com os valores de Gm/Cis, ABTL0812 ou veículo p são medidos entre ABTL0812 + Gm/Cis versus veículo. Direita: Peso corporal total nos diferentes grupos de tratamento durante todo o período experimental. Ver o Exemplo de trabalho aqui para obter mais detalhes.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Composto (A) do primeiro aspecto

[0095] Uma modalidade preferencial é em que

- (i) **a** pode ser qualquer valor inteiro entre 5 e 7,
- (ii) **b** pode ser qualquer valor inteiro entre 2 e 4,
- (iii) **c** pode ser qualquer valor inteiro entre 1 e 5.

[0096] De um modo preferencial, **R₁** pode ser H, Na, K, CH₃, CH₃-CH₂ ou PO(O-CH₂-CH₃)₂,

[0097] Preferencialmente, **R₂** pode ser OH, OCH₃, OCH₃, COOH, CH₃, Cl, CH₂OH, OPO(OCH₂CH₃)₂, NOH, F, HCOO ou N(OCH₂CH₃)₂.

[0098] Em uma modalidade preferencial, **R₁** é H e **R₂** é OH.

[0099] Em outra modalidade preferencial **R₁** é Na e **R₂** é OH.

[0100] De preferência, o Composto (A) é pelo menos um composto selecionado do grupo que consiste em:



(ABTL0812),



COOH-CHOH-(CH₂)₃-(CH=CH-CH₂)₃-(CH₂)₃-CH₃ (183A2),
 COOH-CHOH-(CH₂)₂-(CH=CH-CH₂)₄-(CH₂)₃-CH₃ (204A1),
 COOH-CHOH-(CH₂)₂-(CH=CH-CH₂)₅-CH₃ (205A1) e
 COOH-CHOH-CH₂-(CH=CH-CH₂)₆-CH₃ (226A1).

[0101] Mais preferencialmente, o Composto (A) é COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃(ABTL0812).

[0102] Um sal farmacologicamente aceitável do Composto (A) refere-se a qualquer sal farmacologicamente aceitável do Composto (A). Como é conhecido na técnica, existem numerosos sais conhecidos farmacologicamente aceitáveis. Exemplos de sais farmacologicamente aceitáveis incluem, entre outros, sódio (Na), potássio, acetatos, sulfatos, piro-sulfatos, bissulfatos, sulfitos, bissulfitos, fosfatos, mono-hidrogenofosfatos, di-hidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloretos, brometos, iodetos, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butino-1,4-dioatos, hexino-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, xilenossulfonatos, filacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, gama-hidroxibutiratos, glicolatos, tartaratos, alcanossulfonatos (por exemplo, metano-sulfonato ou mesilato), propanossulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos, naftaleno-2-sulfonatos e mandelatos. Em uma modalidade particular, o sal do Composto (A) é o sal de sódio.

[0103] Como entendido pelo indivíduo versado no presente contexto, quando no presente documento se refere a uma fórmula preferencial do Composto (A), como, por exemplo, ABTL0812 - entende-se aqui que ela também incluiu como sal da mesma - por exemplo, quando aqui se refere ao Composto (A) é COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃ (ABTL0812), então também se refere a um sal de ABTL0812.

[0104] De um modo preferencial, o Composto (A) é

um sal de sódio do $\text{COOH-CHOH-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812).

Composto (B) do primeiro aspecto

[0105] De preferência, o Composto (B) é pelo menos um composto de agente quimioterápico selecionado do grupo que consiste em:

[0106] Alquilador bifuncional (de preferência ciclofosfamida, mecloretamina, clorambucila ou melfala);

[0107] Alquilador Monofuncional (de preferência Dacarbazina (DTIC), Nitrosoureas ou Temozolomida); Antraciclina (preferencialmente Daunorrubicina, Doxorrubicina, Epirubicina, Idarubicina, Mitoxantrona ou Valrubicina);

[0108] Taxano (preferencialmente Paclitaxel, Docetaxel, Nab-Paclitaxel ou Taxotere);

[0109] Eptilona (preferencialmente patupilona, sagopilona ou ixabepilona);

[0110] Inibidor da desacetilase (preferencialmente Vorinostat ou Romidepsina);

[0111] Inibidor da topoisomerase I (preferencialmente irinotecano ou topotecano);

[0112] Inibidor da Topoisomerase II (preferencialmente Etoposídeo, Teniposídeo ou Tafluposídeo);

[0113] Inibidor de cinase (preferencialmente bortezomibe, erlotinibe, gefitinibe, imatinibe, vemurafenibe ou vismodegibe); Análogo de nucleotídeo e/ou análogo de precursor (de preferência azacitidina, azatioprina, capecitabina, citarabina, doxifluridina, fluorouracila, gencitabina, hidroxiureia, mercaptopurina, metotrexato ou tioguanina);

[0114] Antibiótico peptídico (de preferência bleomicina ou actinomicina);

[0115] Agente à base de platina (de preferência carboplatina, cisplatina ou oxaliplatina);

[0116] Retinoide (de preferência tretinoína, alitretinoína ou bexaroteno); e

[0117] Alcaloide e derivado de Vinca (de preferência Vinblastina, Vincristina, Vindesina ou Vinorelbina).

[0118] Como se entende no presente contexto - em relação a qualquer um dos exemplos listados preferenciais do Composto (B), é mais preferencial que o Composto (A) seja $\text{COOH-CHOH-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812).

[0119] Mais preferencialmente, o Composto (B) é pelo menos um composto de agente quimioterápico selecionado do grupo que consiste em:

- [0120] Ciclofosfamida;
- [0121] Melfalano;
- [0122] Docetaxel;
- [0123] Paclitaxel;
- [0124] Nab-paclitaxel;
- [0125] Carboplatina;
- [0126] Cisplatina;
- [0127] Oxaliplatina;
- [0128] Metotrexato;
- [0129] Pemetrexede;
- [0130] Azatioprina;
- [0131] Capecitabina;
- [0132] Fluouracila;
- [0133] Mercaptopurina;
- [0134] Gencitabina;
- [0135] Bleomicina;
- [0136] Actinomicina;
- [0137] Vincristina;

- [0138] Vinblastina;
- [0139] Vinorelbina;
- [0140] Ácido retinoico;
- [0141] Temozolomida;
- [0142] Daunorrubicina;
- [0143] Doxorrubicina;
- [0144] Irinotecano; e
- [0145] Topotecano.
- [0146] Ainda mais preferencialmente, o Composto (B)

é pelo menos um composto de agente quimioterápico selecionado do grupo que consiste em:

- [0147] Docetaxel;
- [0148] Paclitaxel;
- [0149] Nab-paclitaxel;
- [0150] Carboplatina;
- [0151] Cisplatina;
- [0152] Oxaliplatina;
- [0153] Metotrexato
- [0154] Pemetrexede;
- [0155] Gencitabina;
- [0156] Bleomicina;
- [0157] Ácido retinoico;
- [0158] Temozolomida;
- [0159] Doxorrubicina;
- [0160] Irinotecano; e
- [0161] Topotecano.
- [0162] Pode ser preferencial que o Composto (B) do

primeiro aspecto compreenda dois ou mais diferentes agentes quimioterápicos (em particular, quando o Composto (A) for $\text{COOH-CHOH-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812) -, tal como, de preferência em que o Composto (B) do

primeiro aspecto compreende: paclitaxel e carboplatina;

[0163] Paclitaxel e Gencitabina;

[0164] Nab-Paclitaxel e Gencitabina;

[0165] Gencitabina e Cisplatina;

[0166] Pemetrexede e Cisplatina.

[0167] É particularmente preferencial que o Composto

(A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja docetaxel - em particular em que o câncer é câncer de pulmão (preferencialmente adenocarcinoma pulmonar de células não pequenas). (Ver os Exemplos 1.1 e 2.1 no presente documento para um exemplo dessa modalidade preferencial).

[0168] É particularmente preferencial que o Composto

(A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja paclitaxel - em particular em que o câncer é câncer de pulmão (câncer de pulmão de células não pequenas). (Ver o Exemplo 1.2 no presente documento para um exemplo dessa modalidade preferencial).

[0169] É particularmente preferencial que o Composto

(A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja gencitabina - em particular em que o câncer é câncer de pâncreas. (Ver, por exemplo, o Exemplo 1.3 no presente documento, para obter um exemplo desta modalidade preferencial).

[0170] É particularmente preferencial que o Composto

(A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja carboplatina - em particular em que o câncer é o câncer de células endometriais. (Ver o Exemplo 1.4 aqui para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0171] É particularmente preferencial que o Composto

(A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja ácido retinoico - em particular em que o câncer é neuroblastoma. (Ver o Exemplo 1.5 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0172] É particularmente preferencial que o Composto

(A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja paclitaxel - em particular em que o câncer é câncer de mama (preferencialmente câncer de mama triplo negativo).

(Ver o Exemplo 1.6 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0173] É particularmente preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja paclitaxel e carboplatina - em particular em que o câncer é câncer escamoso (preferencialmente câncer de pulmão escamoso de células não pequenas). (Ver o Exemplo 2.2 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0174] É particularmente preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja paclitaxel e carboplatina - em particular em que o câncer é adenocarcinoma pulmonar de células não pequenas. (Ver o exemplo 2.3 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0175] É particularmente preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja pemetrexede e cisplatina - em particular em que o câncer é adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas. (Ver o exemplo 2.4 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0176] É particularmente preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja paclitaxel - em particular em que o câncer é câncer endometrial. (Ver o Exemplo 2.5 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0177] É particularmente preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja paclitaxel e carboplatina - em particular em que o câncer é câncer endometrial. (Ver o Exemplo 2.6 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0178] É particularmente preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja paclitaxel e gencitabina - em particular em que o câncer é câncer pancreático. (Ver o Exemplo 2.7 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0179] É particularmente preferencial que o Composto

(A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja gencitabina ou Nab-Paclitaxel e gencitabina - em particular em que o câncer é câncer pancreático. (Ver o Exemplo 2.8 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0180] É particularmente preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja cisplatina - em particular em que o câncer é um câncer de neuroblastoma. (Ver o Exemplo 2.9 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0181] É particularmente preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja doxorrubicina - em particular em que o câncer é um câncer de mama triplo negativo. (Ver o Exemplo 2.10 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0182] É particularmente preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja gencitabina e cisplatina - em particular em que o câncer é câncer de colangiocarcinoma. (Ver o Exemplo 2.11 no presente documento para um exemplo desta modalidade preferencial).

[0183] É preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja temozolomida e irinotecano - em particular em que o câncer é um câncer de neuroblastoma.

[0184] É preferencial que o Composto (A) seja ABTL0812 e o Composto (B) seja doxorrubicina e topotecano - em particular em que o câncer é um câncer de neuroblastoma.

[0185] De preferência, a combinação farmacêutica como discutida aqui é em que o Composto (A) é ABTL0812 e em que:

[0186] - O Composto (B) é docetaxel e o câncer é câncer de pulmão, preferencialmente adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;

[0187] - O Composto (B) é paclitaxel e o câncer é câncer de pulmão, preferencialmente adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;

- [0188] - O Composto (B) é gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;
- [0189] - O Composto (B) é carboplatina e o câncer é endometrial;
- [0190] - O Composto (B) é ácido retinoico e o câncer é neuroblastoma;
- [0191] - O Composto (B) é paclitaxel e o câncer é câncer de mama, preferencialmente câncer de mama triplo negativo;
- [0192] - O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer de células escamosas, preferencialmente câncer de pulmão escamoso de células não pequenas;
- [0193] - O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;
- [0194] - O Composto (B) é pemetrexede e cisplatina e o câncer é adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;
- [0195] - O Composto (B) é paclitaxel e o câncer é câncer endometrial;
- [0196] - O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer endometrial;
- [0197] - O Composto (B) é paclitaxel e gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;
- [0198] - O Composto (B) é gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;
- [0199] - O Composto (B) é gencitabina e Nab-paclitaxel e o câncer é câncer de pâncreas;
- [0200] - O Composto (B) é cisplatina e gencitabina e o câncer é neuroblastoma;
- [0201] - O Composto (B) é ácido da doxorrubicina e o câncer é câncer de mama, preferencialmente câncer de mama triplo negativo;
- [0202] - O Composto (B) é cisplatina e gencitabina e

o câncer é colangiocarcinoma;

[0203] - O Composto (B) é gencitabina e o câncer é colangiocarcinoma;

[0204] - O Composto (B) é topotecano e o câncer é neuroblastoma;

[0205] - O Composto (B) é irinotecano e o câncer é neuroblastoma; ou

[0206] - O Composto (B) é temozolomida e o câncer é neuroblastoma.

[0207] Como discutido acima, o Exemplo 4 no presente documento discute resultados preliminares já obtidos de ensaios críticos em humanos - os ensaios clínicos em humanos já obtidos são positivos no sentido de que esses resultados indicam que também em humanos há um efeito sinérgico em relação ao uso do composto ABTL0812 em combinação com paclitaxel e carboplatina em pacientes com câncer endometrial avançado ou câncer de células escamosas.

[0208] Por conseguinte, é preferencial que a combinação farmacêutica como discutida no presente documento seja em que o Composto (A) é ABTL0812 e em que:

[0209] - O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer endometrial avançado, preferencialmente câncer endometrial avançado; ou

[0210] - O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é o câncer de células escamosas.

[0211] Preferencialmente, o ABTL0812 é administrado por via oral - preferencialmente, a dose administrada de ABTL0812 é uma dose de 1.200 mg a 1.400 mg.

[0212] Mais preferencialmente, o ABTL0812 é administrado por via oral, começando com uma dose de 1.200 mg a 1.400 mg, três vezes ao dia em combinação com quimioterapia.

UM CÂNCER

[0213] De preferência, o câncer é pelo menos um câncer selecionado do grupo que consiste em:

[0214] Câncer de pulmão;

[0215] Câncer de pulmão de células não pequenas;

[0216] Câncer de pulmão de pequenas células;

[0217] Câncer de células escamosas;

[0218] Adenocarcinoma;

[0219] Câncer do endométrio;

[0220] Câncer de pâncreas;

[0221] Glioblastoma;

[0222] Câncer de mama;

[0223] Câncer de cabeça e pescoço;

[0224] Neuroblastoma; e

[0225] Colangiocarcinoma.

[0226] Mais preferencialmente, o câncer é pelo menos

um câncer selecionado do grupo que consiste em:

[0227] Câncer de pulmão de células não pequenas;

[0228] Câncer de células escamosas;

[0229] Câncer do endométrio;

[0230] Câncer de pâncreas;

[0231] Glioblastoma;

[0232] Câncer de mama;

[0233] Neuroblastoma; e

[0234] Colangiocarcinoma.

ADMINISTRAÇÃO DO COMPOSTO (A) E/OU

COMPOSTO (B):

[0235] Como discutido acima, em relação ao tratamento de combinação discutido no presente documento não é essencial se os dois compostos (A) e (B) forem administrados, por exemplo, simultaneamente

como uma composição única ou, por exemplo, sequencialmente como duas composições separadas. O importante é que uma quantidade eficaz do composto/agente administrado pela primeira vez esteja no corpo do paciente quando o segundo composto/agente é administrado.

[0236] Pode ser preferencial que a combinação farmacêutica como discutida no presente documento seja uma composição única que compreende o Composto (A) e o Composto (B).

[0237] O Composto (A) (em particular ABTL0812) é preferencialmente administrado por via oral.

[0238] A dose administrada do Composto (A) (em particular ABTL0812) é preferencialmente uma dose de 200 mg a 6.000 mg (preferencialmente 2.000 mg), mais preferencialmente uma dose de 300 mg a 1.600 mg e ainda mais preferencialmente uma dose de 450 mg a 1.450 mg.

[0239] Mais preferencialmente - a dose administrada de Composto (A) (em particular ABTL0812) é preferencialmente uma dose total de 200 mg a 6.000 mg (preferencialmente 2.000 mg) por dia, mais preferencialmente uma dose total de 300 mg a 1.600 mg por dia e ainda mais preferencialmente uma dose total de 450 mg a 1.450 mg por dia. Preferencialmente, a dose total é fornecida por administração 1 a 5 vezes ao dia, mais preferencialmente 2 a 4 vezes ao dia e mais preferencialmente 3 vezes ao dia.

[0240] Consequentemente, se a dose total for, por exemplo, 1.200 mg por dia e for fornecida por administração 3 vezes ao dia - então as 3 vezes, por exemplo, podem ser de 400 mg cada.

[0241] Em relação ao Composto (B), uma via de administração preferencial dependerá geralmente do agente quimioterápico de interesse.

[0242] A via de administração preferencial para o Composto (B) preferencial é brevemente descrita abaixo:

[0243] Docetaxel; - de preferência administrado por

via intravenosa por solução de infusão

[0244] Paclitaxel; - de preferência administrado por

via intravenosa por solução de infusão

[0245] Carboplatina; - de preferência administrado por

via intravenosa por solução de infusão

[0246] Cisplatina; - de preferência administrado por

via intravenosa por solução de infusão

[0247] Gencitabina; - de preferência administrado por

via intravenosa por solução de infusão

[0248] Nab-Paclitaxel (Abraxane®); - de preferência

administrado por via intravenosa via suspensão de infusão

[0249] Pemetrexede; - de preferência administrado

por via intravenosa por solução de infusão

[0250] Doxorubicina; - de preferência administrado

por via intravenosa

ASPECTOS/MODALIDADES DA INVENÇÃO NO
CHAMADO FORMATO DE REIVINDICAÇÃO:

[0251] 1. Uma combinação farmacêutica que

compreende:

[0252] (A): um composto que é um ácido graxo poli-

insaturado de fórmula $\text{COOR}_1\text{-CHR}_2\text{-(CH}_2\text{)}_a\text{-(CH=CHCH}_2\text{)}_b\text{-(CH}_2\text{)}_c\text{-CH}_3$, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma combinação dos mesmos, em que

(i) **a** pode ser qualquer valor inteiro entre 0 e 7,

(ii) **b** pode ser qualquer valor inteiro entre 2 e 7,

(iii) **c** pode ser qualquer valor inteiro entre 0 e 7,

(iv) **R**₁ é H, Na, K, CH₃, CH₃-CH₂ ou PO(O-CH₂-CH₃)₂, e

(v) **R**₂ representa OH, OCH₃, COOH, CH₃, Cl,

CH₂OH, OPO(OCH₂CH₃)₂, NOH, F, HCOO ou N (OCH₂CH₃)₂;

[0253] e

[0254] (B): um composto quimioterápico

[0255] para o uso simultâneo, separado ou sequencial no tratamento de um câncer em um paciente humano.

[0256] **2.** A combinação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, em que

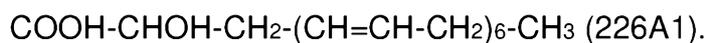
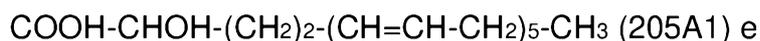
- (i) **a** pode ser qualquer valor inteiro entre 5 e 7,
- (ii) **b** pode ser qualquer valor inteiro entre 2 e 4, e
- (iii) **c** pode ser qualquer valor inteiro entre 1 e 5.

[0257] **3.** A combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que **R**₁ é H e **R**₂ é OH.

[0258] **4.** A combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o Composto (A) é pelo menos um composto ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo selecionado a partir do grupo que consiste em:



(ABTL0812),



[0259] **5.** A combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o Composto (A) é COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃ (ABTL0812) ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

[0260] **6.** A combinação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 5, em que o Composto (A) é um sal de sódio de COOH-CHOH-(CH₂)₆-(CH=CH-CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃ (ABTL0812).

[0261] **7.** A combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o câncer é pelo menos um

câncer selecionado do grupo que consiste em:

- [0262] Câncer de pulmão;
- [0263] Câncer de pulmão de células não pequenas;
- [0264] Câncer de células escamosas;
- [0265] Câncer de adenocarcinoma;
- [0266] Câncer do endométrio;
- [0267] Câncer seroso;
- [0268] Câncer de pâncreas;
- [0269] Câncer de glioblastoma;
- [0270] Câncer de mama recorrente-resistente;
- [0271] Câncer de cabeça e pescoço;
- [0272] Câncer de neuroblastoma e
- [0273] Câncer de colangiocarcinoma.
- [0274] **8.** A combinação farmacêutica, de acordo com

qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o Composto (B) é pelo menos um composto de agente quimioterápico selecionado do grupo que consiste em:

- [0275] Docetaxel;
- [0276] Paclitaxel;
- [0277] Carboplatina;
- [0278] Cisplatina;
- [0279] Gencitabina;
- [0280] Nab-Paclitaxel;
- [0281] Ácido retinoico;
- [0282] Temozolomida;
- [0283] Irinotecano;
- [0284] Doxorrubicina; e
- [0285] Topotecano.
- [0286] **9.** A combinação farmacêutica, de acordo com

a reivindicação 8, em que o Composto (A) é $\text{COOH-CHOH-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-}$

$\text{CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ (ABTL0812) ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

[0287] **10.** A combinação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 9, em que

[0288] - O Composto (B) é docetaxel e o câncer é câncer de pulmão, preferencialmente adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;

[0289] - O Composto (B) é paclitaxel e o câncer é câncer de pulmão, preferencialmente adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;

[0290] - O Composto (B) é gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;

[0291] - O Composto (B) é carboplatina e o câncer é o câncer de células endometriais;

[0292] - O Composto (B) é ácido retinoico e o câncer é neuroblastoma;

[0293] - O Composto (B) é ácido paclitaxel e o câncer é câncer de mama, preferencialmente câncer de mama triplo negativo;

[0294] - O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer de células escamosas, preferencialmente câncer de pulmão escamoso de células não pequenas;

[0295] - O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;

[0296] - O Composto (B) é pemetrexede e cisplatina e o câncer é adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;

[0297] - O Composto (B) é paclitaxel e o câncer é câncer endometrial;

[0298] - O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer endometrial;

[0299] - O Composto (B) é paclitaxel e gencitabina e

o câncer é câncer de pâncreas;

[0300] - O Composto (B) é a gencitabina e o câncer é

o câncer de pâncreas;

[0301] - O Composto (B) é gencitabina e Nab-

Paclitaxel e o câncer é câncer de pâncreas;

[0302] - O Composto (B) é cisplatina e gencitabina e

o câncer é câncer de neuroblastoma;

[0303] - O Composto (B) é ácido da doxorubicina e o

câncer é câncer de mama, preferencialmente câncer de mama triplo negativo;

ou

[0304] - O Composto (B) é cisplatina e gencitabina e

o câncer é câncer de colangiocarcinoma.

[0305] **11.** A combinação farmacêutica, de acordo

com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a combinação farmacêutica é uma composição única que compreende o Composto (A) e o Composto (B).

[0306] **12.** A combinação farmacêutica, de acordo

com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o Composto (A) é administrado por via oral.

[0307] **13.** A combinação farmacêutica, de acordo

com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a dose administrada do Composto (A) é uma dose total de 200 mg a 2.000 mg por dia.

[0308] **14.** A combinação farmacêutica, de acordo

com qualquer uma das reivindicações 12 a 13, em que o Composto (A) é $\text{COOH-CHOH-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812) ou de um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[0309] **15.** A combinação farmacêutica, de acordo

com a reivindicação 14, em que

[0310] - O Composto (B) é Docetaxel e é administrado

por via intravenosa por solução de infusão;

[0311] - O Composto (B) é o Paclitaxel e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

[0312] - O Composto (B) é Carboplatina e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

[0313] - O Composto (B) é Cisplatina e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

[0314] - O Composto (B) é a Gencitabina e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

[0315] - O Composto (B) é Nab-Paclitaxel e é administrado por via intravenosa via suspensão de infusão;

[0316] - O Composto (B) é Temozolomida e é administrado por via oral (por exemplo, na forma de cápsulas);

[0317] - O Composto (B) é o Irinotecano e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

[0318] - O Composto (B) é Doxorrubicina e é administrado por via intravenosa; ou

[0319] - O Composto (B) é Topotecano e é administrado por via intravenosa por solução de infusão.

EXEMPLOS

*EXEMPLO 1: ABTL0812 em combinação com diferentes agentes quimioterápicos - **Ensaio in vitro***

1.1:

[0320] *Ensaio de viabilidade celular de ABTL0812 em combinação com docetaxel no câncer de pulmão*

[0321] **Referência do estudo:** ABT-EI-

[0322] **Local do estudo:** Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

[0323] **Conformidade com GLP:** Não

[0324] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote 006/2010)

[0325] **Composto de referência:** Docetaxel (Fluka, 01855-5MG-F, lote 1425738V)

[0326] **Sistema de teste:** linha celular A549 (carcinoma do pulmão humano)

[0327] **Objetivo:** Avaliar o efeito da combinação de ABTL0812 com docetaxel na viabilidade celular. Docetaxel é um composto citotóxico usado no câncer de pulmão; portanto, uma combinação terapêutica potencial no câncer de pulmão pode envolver o uso de ABTL0812 e docetaxel.

[0328] **Métodos:** As células A549 foram incubadas com concentrações crescentes de ABTL0812 (3 a 300 μM), docetaxel (0,01 a 100 μM) ou uma combinação de ambos (sub IC_{50} , isto é, 20 μM de concentração fixa de ABTL0812 e 0,01 a 100 μM de docetaxel) por três dias (FBS 0,5%). A viabilidade celular foi avaliada em todos os casos por ensaio de MTT e os valores de IC_{50} calculados para ABTL0812, o docetaxel e a combinação. Finalmente, o Índice de Combinação (CI), para avaliar o sinergismo, foi calculado de acordo com o método de Chou e Talalay (Chou 2006; Chou 2010), da seguinte forma: $\text{CI} = (D)1/(Dx)1 + (D)2/(Dx)2$, onde $\text{CI} < 1$, $= 1$ e > 1 indicam sinergismo, efeito aditivo e antagonismo, respectivamente. No denominador, (Dx)1 é para D1 "sozinho" que inibe um sistema x% e (Dx)2 é para D2 "sozinho" que inibe um sistema x%. Nos numeradores, (D)1 e (D)2 "em combinação" também inibem x%. Os resultados mostrados são a média de duas experiências independentes.

[0329] **Resultados:** Como esperado, ABTL0812 e docetaxel foram citotóxicos quando utilizados de forma independente. A adição de uma baixa concentração de ABTL0812 (20 μM , equivalente à sua IC_{10}) aumentou drasticamente a citotoxicidade do docetaxel. A IC_{50} para o docetaxel em presença de ABTL0812 foi reduzida > 80 vezes, ou seja, a partir de 1,7 μM a 0,02 μM (ver tabela abaixo e na Figura 1 no presente documento).

Composto	IC₅₀ (µM)
ABTL0812	42
Docetaxel	1,7
Docetaxel+20 µM ABTL0812	0,02

[0330] Em seguida, o sinergismo potencial do ABTL0812 com docetaxel foi calculado de acordo com o método de Chou e Talalay (Chou 2006; Chou 2010). A combinação de ambos os fármacos foi sinérgica em toda a gama de atividades com um CI = 0,47 a 50% de viabilidade celular. Este CI é indicativo de sinergia.

[0331] **Conclusões:** ABTL0812 e docetaxel têm efeito sinérgico *in vitro* na linha celular A549 de adenocarcinoma pulmonar. Uma concentração subótima de ABTL0812 (20 µM) reduz em mais de 80 vezes a IC₅₀ de docetaxel. Esses resultados abrem a oportunidade para a combinação *in vivo* de ambos os fármacos no câncer de pulmão. O docetaxel é um fármaco de escolha em vários estágios do câncer de pulmão; portanto, a combinação com ABTL0812 tem um efeito benéfico potencial, pois foi observada uma sinergia entre os dois fármacos que aumenta seus efeitos citotóxicos nas células de câncer de pulmão.

1.2:

[0332] *Ensaio de viabilidade celular de ABTL0812 em combinação com paclitaxel em câncer pulmonar*

[0333] **Referência do estudo:** LN3-T30 e ABT-EI-048

[0334] **Local do estudo:** Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

[0335] **Conformidade com GLP:** Não

[0336] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote 002/2012)

[0337] *Composto de referência:* Paclitaxel (SelleckChem, S1150-10MG, lote 09)

[0338] **Sistema de teste:** linha celular A549 (carcinoma do pulmão humano) com KRAS mutado; H157 (carcinoma escamoso de pulmão de células não pequenas humanas com PTEN mutado; HTB182: carcinoma escamoso de pulmão de células não pequenas humanas e H1975: adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas humanas com PI3KCA mutado.

[0339] **Objetivo:** Avaliar o efeito da combinação de ABTL0812 com paclitaxel na viabilidade celular. O paclitaxel é um composto citotóxico usado no câncer de pulmão; portanto, uma combinação terapêutica potencial no câncer de pulmão pode envolver o uso de ABTL0812 e paclitaxel.

[0340] **Métodos:** As células A549 foram incubadas com concentrações crescentes de ABTL0812 (3 a 300 μM), paclitaxel (0,003 a 1 μM) ou uma combinação de ambos usando concentração fixa subIC_{50} de ABTL0812 e 0,003 a 1 μM de paclitaxel por 72 horas em DMEM com 0,1% de FBS. As células H157, H1957 e HTB-812 foram incubadas com concentrações crescentes de paclitaxel (0,001 a 10 μM) isoladamente e em combinação com a concentração fixa subIC_{50} de ABTL0812 por 48 horas em DMEM com 0,1% de SFB. A viabilidade celular foi avaliada em todos os casos pelo ensaio de MTT e os valores de IC_{50} foram calculados para o paclitaxel e a combinação. As concentrações das combinações para as diferentes linhas celulares foram:

[0341] Células A549: ABTL0812 IC_{50} = 49 μM . O paclitaxel foi combinado com 10 (IC10) 20 (IC25) e 30 μM (IC35) de ABTL0812.

[0342] Células H157: ABTL0812 IC_{50} = 23 μM . O paclitaxel foi combinado com 10 (IC20) e 15 (IC35) μM de ABTL0812.

[0343] Células H1957: ABTL0812 IC_{50} = 43 μM . O paclitaxel foi combinado com 10 (IC10) e 20 (IC20) μM de ABTL0812.

[0344] Células HTB-812: ABTL0812 IC_{50} = 29 μM . O paclitaxel foi combinado com 10 (IC20) e 15 (IC35) μM de ABTL0812.

[0345] Por fim, o Índice de Combinação (CI), conforme descrito na seção anterior, foi calculado para os valores de IC_{50} de paclitaxel.

[0346] **Resultados:** ABTL0812 e paclitaxel foram citotóxicos nas quatro linhas celulares de câncer de pulmão. Na linha celular A549 de câncer de pulmão, quando usada de forma independente, a adição de 15, 20 ou 30 μM de ABTL0812 aumentou a citotoxicidade do paclitaxel. A IC_{50} para a combinação foi menor do que para cada fármaco isolado, e foi observada uma redução de 2 (15 μM e 20 μM) ou 7 (30 μM) em IC_{50} para paclitaxel. Essas reduções de IC_{50} de paclitaxel foram sinérgicas e os CI foram de 0,34, 0,28 e 0,22 para ABTL0812 15, 20 e 30 μM , respectivamente. Nas células H157, a sinergia observada não é tão forte quanto nas células A549, potencializando a citotoxicidade do paclitaxel quando combinada com 15 μM de ABTL0812 (IC_{35}), diminuindo a IC_{50} de paclitaxel de 4,19 para 2,39 μM , uma redução de 1,75 vez, mostrando uma sinergia com um CI de 0,7. No caso das células H1957, não há sinergia quando o ABTL0812 é adicionado a 10 μM (IC_{10}) e os valores de IC_{50} não são alterados (3,68 versus 3,47 μM), mas há uma redução de 6,5 vezes no valor de IC_{50} quando ABTL0812 é adicionado a 20 μM (IC_{20}) de 3,68 a 0,56 μM . Essa redução de IC_{50} de paclitaxel em H1957 foi sinérgica com um CI de 0,3. Finalmente, as células HTB-812 mostram boa sinergia nas duas concentrações testadas, com uma redução de 3 vezes quando o ABTL0812 é adicionado a 10 μM (IC_{20}) de 2,71 a 0,81 μM e uma redução de 3,6 vezes quando o ABTL0812 é adicionado a 20 μM (IC_{35}) de 2,71 a 0,75 μM . Essas reduções em IC_{50} de paclitaxel em células HTB-812 foi sinérgica com um CI de 0,4 e 0,5, respectivamente. Ver a Figura 2 para mais detalhes.

[0347] **Conclusões:** ABTL0812 e paclitaxel têm efeitos sinérgicos *in vitro* em todas as quatro linhas celulares de câncer de pulmão testadas independentemente de seu status mutacional. Concentrações subótimas de ABTL0812 reduziram a IC_{50} do paclitaxel. Esses resultados abrem a oportunidade para a combinação *in vivo* de ambos os fármacos no câncer de pulmão.

1.3:

[0348] *Ensaio de viabilidade celular de ABTL0812*

sozinho ou em combinação com gencitabina no câncer de pâncreas

[0349] **Referência do estudo:** LN1-T56-T58

[0350] **Local do estudo:** Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

[0351] **Conformidade com GLP:** Não

[0352] **Compostos de teste:** ABTL0812 (lote 006/2010)

[0353] **Composto de referência:** Gencitabina (Sigma, G6423, lote 041M4727V)

[0354] **Sistema de teste:** MiaPaca2 (carcinoma pancreático humano)

[0355] **Objetivos:** Estudar o potencial sinergismo do ABTL0812 quando adicionado à gencitabina na linha celular do câncer de pâncreas MiaPaca2. A gencitabina é considerada um padrão de tratamento para o tratamento da maioria dos tipos de câncer de pâncreas. Em muitos casos, principalmente para câncer de pâncreas avançado, é administrado em combinação com outros fármacos (Ghaneh e Neoptolemos 2007); portanto, é interessante saber se existe algum efeito aditivo entre os dois fármacos.

[0356] **Métodos:** As células MiaPaca2 foram semeadas em placas de 24 poços juntamente com gencitabina (0,01 a 100 μM), ABTL0812 (3 a 300 μM) ou uma combinação de ambas (sub IC_{50} , ou seja, concentração fixa de 25 μM de ABTL0812 com 0,01 a 100 μM de gencitabina) e deixada na incubadora por 72 h (0,5% de FBS). A viabilidade celular foi estudada pelo ensaio MTT e vários parâmetros foram determinados para avaliar um possível sinergismo. Primeiro, a IC_{50} para cada fármaco por si só ou a combinação foi calculada. Então, o sinergismo (CI) foi calculado como descrito acima.

[0357] **Resultados:** A IC_{50} para a combinação foi menor do que para cada fármaco por si só, como uma redução de sete vezes na IC_{50} para a gencitabina foi observada. Observa-se que a concentração de

ABTL0812 escolhida para o experimento de combinação teve uma atividade muito baixa sozinha (<10% de citotoxicidade), no entanto, potencializou a citotoxicidade da gencitabina - ver a tabela abaixo e a Figura 3.

Composto	IC₅₀ (µM)
ABTL0812	49
Gencitabina	10,2
Gencitabina + 25 µM ABTL0812	1,4

[0358] O sinergismo potencial de ABTL0812 com gencitabina foi calculado de acordo com o método de Chou e Talalay (Chou 2006; Chou 2010), para razões de combinação não constantes. A combinação de ambos os fármacos foi sinérgica em toda a gama de atividades com um CI = 0,65 a 50% de viabilidade celular. Esse CI é indicativo de sinergia.

[0359] **Conclusões:** ABTL0812 e gencitabina têm efeitos sinérgicos *in vitro* na linha celular MiaPaca2 do câncer de pâncreas. Uma concentração subótima de ABTL0812 (25 µM) reduz em 7 vezes a IC₅₀ de gencitabina. Esses resultados abrem a oportunidade para a combinação *in vivo* de ambos os fármacos.

1.4:

[0360] *Ensaio de viabilidade celular de ABTL0812 isoladamente ou em combinação com carboplatina no câncer endometrial*

[0361] **Referência do estudo:** ABT-EI-065

[0362] **Local do estudo:** Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

[0363] **Conformidade com GLP:** Não

[0364] **Compostos de teste:** ABTL0812 (lote 006/2010)

[0365] **Composto de referência:** Carboplatina (Sigma, C2538)

[0366] **Sistema de teste:** Ishikawa (carcinoma

endometrial humano)

[0367] **Objetivos:** Estudar o sinergismo potencial de ABTL0812 quando adicionado à carboplatina na linha celular Ishikawa de câncer de endométrio. A carboplatina é considerada um padrão de tratamento para o tratamento da maioria dos tipos de câncer endometrial. Portanto, é interessante saber se existe algum efeito aditivo entre os dois fármacos.

[0368] **Métodos:** As células Ishikawa foram semeadas em placas de 24 poços, juntamente com o aumento da concentração de carboplatina (1 a 300 μM) na presença de 4 μM de ABTL0812 (equivalente a uma IC₁₀) por 48 h (0,5% de FBS). A viabilidade celular foi estudada pelo ensaio MTT e vários parâmetros foram determinados para avaliar um possível sinergismo. Primeiro, a IC₅₀ para cada fármaco por si só ou a combinação foi calculada.

[0369] **Resultados:** A IC₅₀ para a combinação foi menor do que para cada fármaco por si só, como uma redução de 3 vezes na IC₅₀ para a carboplatina foi observada. Observa-se que a concentração de ABTL0812 escolhida para o experimento de combinação teve uma atividade muito baixa sozinha (<10% de citotoxicidade), no entanto, potencializou a citotoxicidade da gencitabina - ver a Figura 4 neste documento.

[0370] **Conclusões:** ABTL0812 e carboplatina têm efeitos sinérgicos *in vitro* na linha celular Ishikawa de câncer de endométrio. Uma concentração subótima de ABTL0812 (4 μM) reduz em 3 vezes a IC₅₀ de carboplatina. Esses resultados abrem a oportunidade para a combinação *in vivo* de ambos os fármacos.

1.5:

[0371] *Ensaio de viabilidade celular de ABTL0812 sozinho ou em combinação com ácido retinoico no neuroblastoma*

[0372] **Referência do estudo:** ABT-EI-055

[0373] **Local do estudo:** Laboratory of Translational Research in Pediatric Cancer (VHIR)

- [0374] **Conformidade com GLP:** Não
- [0375] **Compostos de teste:** ABTL0812 (lote 006/2010)
- [0376] **Composto de referência:** ácido retinoico (Sigma, R2625)
- [0377] **Sistema de teste:** SK-N-BE (2): linha celular de neuroblastoma humano e LA1-5S: sublinha clonal da linha celular de neuroblastoma LA-N-1
- [0378] **Objetivos:** Avaliar o efeito da combinação de ABTL0812 com ácido retinoico (AR) na viabilidade celular nas linhas celulares de neuroblastoma SK-N-BE(2) e LA1-5S.
- [0379] **Métodos:** As células LA1-5S e SK-N-BE (2) foram incubadas com uma concentração fixa subIC₅₀ de ABTL0812 (30 µM), concentrações crescentes de 10 µM, 20 µM e 30 µM de ácido retinoico ou uma combinação de ambos. 10 µM de ácido retinoico é a dose farmacológica administrada por via oral em estudos de fase I em pacientes com neuroblastoma (Villablanca et al.1995). As células foram tratadas por 24 horas em IMDM com 0,5% de FBS. A viabilidade celular foi avaliada em todos os casos pelo teste de cristal violeta. Doses diferentes foram avaliadas em seis repetições e os resultados mostrados são a média de duas experiências independentes. As análises estatísticas foram realizadas de acordo com o princípio do Teste T com o software GraphPad Prism® 5.0 (*p <0,05; **p<0,01; ***p<0,001).
- [0380] **Resultados:** ABTL0812 mostrou uma citotoxicidade leve nas linhas celulares de neuroblastoma LA1-5S e SK-N-BE (2) quando usado como agente único em baixas concentrações; a eficácia do ácido retinoico nas concentrações de 10 µM e 20 µM foi ainda menor. A combinação de 30 µM de ABTL0812 e ácido retinoico resultou em alta citotoxicidade em ambas as linhas celulares de neuroblastoma. A porcentagem de células mortas/não proliferativas foi maior do que para cada fármaco isolado em qualquer uma das combinações, o que sugere um efeito sinérgico. O aumento

da morte celular foi estatisticamente significativo em todas as concentrações (**p<0,001). Para mais detalhes, ver a Figura 5 no presente documento.

[0381] **Conclusões:** A combinação de ABTL0812 e RA tem um forte efeito sinérgico, que potencializa sua atividade citotóxica *in vitro* nas linhas celulares de neuroblastoma SK-N-BE(2) e LA1-5S. A AR é comumente usada em clínicas para o tratamento da fase residual mínima da doença do neuroblastoma; portanto, esses dados incentivam a investigação adicional dessa combinação para gerenciar o neuroblastoma.

1.6:

[0382] *Ensaio de viabilidade celular de ABTL0812 isoladamente ou em combinação com paclitaxel no câncer de mama*

[0383] **Referência do estudo:** pendente

[0384] **Local do estudo:** laboratório de Metas, UdG

[0385] **Conformidade com GLP:** Não

[0386] **Compostos de teste:** ABTL0812 (lote 006/2010)

[0387] **Composto de referência:** Paclitaxel (SelleckChem, S1150)

[0388] **Sistema de teste:** MDB-DA-231 (câncer de mama triplo negativo humano)

[0389] **Objetivos:** Estudar o sinérgico potencial de ABTL0812 quando adicionado ao paclitaxel na linha celular de câncer de mama triplo negativo MDB-DA-231.

[0390] **Métodos:** As células MDB-DA-231 foram semeadas em placas de 24 poços, juntamente com o aumento da concentração de paclitaxel (1 a 100 nM) na presença de 5, 10 e 20 µM de ABTL0812 (todas as doses abaixo de uma IC₂₅) por 48 h (0,5% de FBS). A viabilidade celular foi estudada pelo ensaio MTT e vários parâmetros foram determinados para avaliar um possível sinérgico. Primeiro, a IC₅₀ para cada fármaco por si só ou a combinação foi calculada.

[0391] **Resultados:** A IC₅₀ para a combinação foi menor do que para cada fármaco por si só, como se observou uma redução de 2,7 vezes na IC₅₀ para o paclitaxel. Observa-se que a concentração de ABTL0812 escolhida para o experimento de combinação teve uma atividade muito baixa sozinha (<10% de citotoxicidade), no entanto, potencializou a citotoxicidade do paclitaxel, mostrando uma forte sinergia com os valores de CI de 0,3, 0,2 e 0,16 para 5, 10 e 20 µM de ABTL0812, respectivamente - ver a tabela abaixo e a Figura 6.

Composto	IC ₅₀
ABTL0812	29 µM
Paclitaxel	8,7 nM
Paclitaxel + 5 µM ABTL0812	5,1 nM
Paclitaxel + 10 µM ABTL0812	3,2 nM
Paclitaxel + 20 µM ABTL0812	3,2 nM

[0392] **Conclusões:** ABTL0812 e carboplatina têm efeitos sinérgicos *in vitro* na linha celular Ishikawa de câncer de endométrio. Uma concentração subótima de ABTL0812 (4 µM) reduz em 3 vezes a IC₅₀ de carboplatina. Esses resultados abrem a oportunidade para a combinação *in vivo* de ambos os fármacos.

EXEMPLO 2: *ABTL0812 em combinação com diferentes agentes quimioterápicos - Ensaios in vivo*

2.1:

[0393] *Xenoenxerto A549 em camundongos em combinação com docetaxel*

[0394] **Referência do estudo:** ALM-IDIBAPS

[0395] **Local do estudo:** Molecular and Translational Oncology Research Group. IDIBAPS, Hospital Clinic Barcelona.

[0396] **Conformidade com GLP:** Não

[0397] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote

002/2012)

[0398] **Composto de referência:** Docetaxel.

[0399] **Sistema de teste:** camundongos machos

Nu/nu

[0400] **Objetivo:** Investigar a atividade antitumoral do ABTL0812 sozinho e em combinação com o docetaxel, um fármaco de referência para o tratamento do NSCLC.

[0401] **Métodos:** Os camundongos foram injetados com 5×10^6 células A549 em cada flanco para induzir a formação de tumores. 20 dias depois, quando os tumores apresentavam um volume aproximado de 50 mm³, os animais foram randomizados de forma homogênea e os diferentes tratamentos foram iniciados. O ABTL0812 foi administrado por via oral a 30 mg/kg/dia, 5 vezes por semana. O docetaxel 5 mg/kg foi administrado intraperitonealmente uma vez por semana (Coxon et al. 2012). O volume tumoral e o peso corporal foram monitorados 3 vezes por semana.

[0402] **Resultados:** O ABTL0812 reduziu significativamente o volume do tumor quando comparado aos animais de controle (ANOVA seguido pelo teste t). A eficácia do ABTL0812 foi de fato semelhante à eficácia observada para o tratamento com docetaxel. Curiosamente, o ABTL0812 potencializou o efeito antitumoral do docetaxel. A análise estatística mostrou que essa terapia combinada melhora significativamente a redução do crescimento do tumor em comparação com o docetaxel sozinho ($p < 0,001$ pelo teste t). Além disso, não foi observada redução no peso corporal ou nas contagens hematológicas (não mostradas) em nenhum dos grupos de tratamento, incluindo naqueles em que o ABTL0812 é administrado com docetaxel, sugerindo que essa combinação não teve efeitos tóxicos. Em relação ao efeito antitumoral da combinação de ABTL0812 e Docetaxel nos modelos de xenoenxerto de câncer de pulmão A549, todos os tratamentos reduziram significativamente o volume do tumor versus controle no sacrifício (*, ANOVA seguida por análise do teste t). Além disso, a combinação

de 30 mg/kg de ABTL0812 + docetaxel foi significativamente mais eficaz do que o tratamento com docetaxel sozinho (**p<0,01, teste t). Por outro lado, nenhum impacto sobre o peso corporal foi observado em nenhum dos tratamentos, isoladamente ou em combinação. Para mais detalhes, ver a Figura 7 no presente documento.

[0403] **Conclusão:** ABTL0812 reduz o crescimento tumoral em modelos de xenoinxertos de câncer de pulmão derivados de células A549. Nesse modelo, o ABTL0812 possui uma eficácia semelhante ao docetaxel do SOC. ABTL0812 e docetaxel como terapia única reduziram similarmente o volume do tumor em um modelo de xenoinxerto de câncer de pulmão derivado de células A549. O ABTL0812 potencializa a atividade antitumoral do Docetaxel sem efeito tóxico. Esses resultados sugerem que uma terapia combinada de ABTL0812 e Docetaxel pode ter interesse clínico no tratamento de câncer de pulmão.

2.2:

[0404] *Eficácia do ABTL0812 em combinação com paclitaxel e carboplatina em um xenoinxerto escamoso humano de NSCLC (H157) em camundongos*

[0405] **Referência do estudo:** ALM-IDIBAPS

[0406] **Local do estudo:** Molecular and Translational Oncology Research Group. IDIBAPS, Hospital Clinic Barcelona.

[0407] **Conformidade com GLP:** Não

[0408] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote K102E)

[0409] **Sistema de teste:** camundongos machos

Nu/nu

[0410] **Objetivo:** Investigar a taxa de sobrevivência de ABTL0812 sozinho e em combinação com paclitaxel e carboplatina (P/C) com uma análise de Kaplan-Meier em um modelo de xenoinxerto escamoso humano de NSCLC.

[0411] **Métodos:** Os camundongos foram injetados

com 5×10^6 células H157 em um flanko para induzir a formação de tumores. Quando os tumores tinham um volume de aproximadamente 100 mm^3 , os animais foram homogeneamente distribuídos aleatoriamente ($n = 8$ por grupo) e os diferentes tratamentos foram iniciados. As diferentes condições estudadas foram veículo, 120 mg/kg de ABTL0812 oral diariamente, 15 mg/kg de carboplatina + 50 mg/kg de paclitaxel por via ip e um grupo adicional recebendo a combinação desses dois regimes. O ABTL0812 foi administrado sempre dois dias antes da primeira administração de P/C e dois dias após, mantendo 4 doses de ABTL0812 e uma de P/C por semana. O volume do tumor foi monitorado 3 vezes por semana. Para realizar a plotagem de Kaplan-Meier, o critério final para excluir animais do estudo foi um volume tumoral superior a $>1.000 \text{ mm}^3$ ou diferentes indicadores de bem-estar animal validados por um Comitê de Ética. Diferentes grupos foram mantidos em tratamento até que todos os animais de cada grupo atingissem 1.000 mm^3 ou os critérios de resultado relacionados ao bem-estar, exceto para o grupo ABTL0812 + P/C, onde os camundongos tiveram que ser sacrificados antes de atingir 1.000 mm^3 para finalizar o procedimento experimental.

[0412] **Resultados:** O tratamento ABTL0812 em combinação com P/C mostra a terapia mais eficaz em uma análise de Kaplan-Meier. Como visto na Figura 8 no presente documento, a combinação de ABTL0812 + P/C é o tratamento mais eficaz em termos de taxa de sobrevivência, mostrando um benefício significativo sobre os outros grupos. No dia 20 após o início dos tratamentos, o tratamento com ABTL0812 + P/C mostra uma sobrevivência de 75%, em comparação com 0% para os grupos ABTL0812 e P/C e 20% para o grupo veículo, sem mostrar sinais relevantes de toxicidade.

[0413] **Conclusão:** Os critérios do desfecho foram estabelecidos com base em diferentes medidas dos indicadores de bem-estar animal e indicativos da decisão do desfecho. Quando o estado de saúde animal era estável, 1.000 mm^3 de volume do tumor foram definidos como critério final. Nessas condições, a combinação do tratamento ABTL0812 + P/C mostra

aumento significativo na taxa de sobrevivência medida pela análise de Kaplan-Meier em um modelo de xenoenxerto NSCLC de H157 escamosa, com 75% de sobrevivência aos 20 dias após os tratamentos e compartimentado com 0% de sobrevivência no ABTL0812 e veículo e 25% de sobrevivência no grupo P/C.

2.3: *Eficácia do ABTL0812 em combinação com paclitaxel e carboplatina em um xenoenxerto de adenocarcinoma humano de NSCLC (H1975) em camundongos*

[0414] **Referência do estudo:** ABT-EI-049

[0415] **Local do estudo:** Molecular and Translational Oncology Research Group. IDIBAPS, Hospital Clinic Barcelona.

[0416] **Conformidade com GLP:** Não

[0417] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote 002/2012)

[0418] **Compostos de referência:** paclitaxel (Selleckchem n° S1150) carboplatina (Sigma Aldrich n° C2538)

[0419] **Sistema de teste:** camundongos machos Nu/nu

[0420] **Objetivo:** Investigar a atividade antitumoral do ABTL0812 sozinho e em combinação com paclitaxel e carboplatina em um xenoenxerto de adenocarcinoma de pulmão humano. A combinação de paclitaxel e carboplatina é uma das terapias de referência para o tratamento de NSCLC.

[0421] **Métodos:** A linha celular H1975 foi cultivada rotineiramente em DMEM 10% de FBS e as células em fase de crescimento exponencial foram colhidas e contadas para inoculação do tumor. Os camundongos foram injetados em um flanco com $2,5 \times 10^6$ células H1957 suspensas em 50 μ l de meio de crescimento sem FBS e 50 μ l de Matrigel (Corning n° 354234). O volume do tumor foi monitorado 3 dias por semana e, quando os tumores atingiram 100 mm³ (entre 50 e 150 mm³), os animais foram distribuídos homogeneamente em quatro grupos de tratamento, mostrando um

volume intragrupo médio semelhante, excluindo tumores menores que 50 mm³ ou maiores que 150 mm³ para minimizar as variabilidades.

[0422] Os grupos de tratamento foram:

[0423] Grupo veículo (n = 7): tratado oralmente com 200 µl de água + 5% de glicerol quatro dias por semana e duas injeções ip de 100 µl de solução salina uma vez por semana.

[0424] ABTL0812 (n = 9): tratado por via oral com 200 µl de 120 mg/kg de ABTL0812 ressuspensão em água + glicerol a 5%, 5 vezes por semana

[0425] Paclitaxel/carboplatina (n = 9): tratado com 100 µl de 15 mg/kg de paclitaxel administrado ip e 100µl de 5 mg/kg de carboplatina administrado ip uma vez por semana.

[0426] ABTL0812 + paclitaxel/carboplatina (n = 9): tratado oralmente com 200 µl de 120 mg/kg de ABTL0812 quatro dias por semana e 100 µl de 15 mg/kg de paclitaxel administrado ip e 100 µl de 5 mg/kg de carboplatina administrado ip uma vez por dia semana.

[0427] **Resultados:** O ABTL0812 administrado em combinação com paclitaxel e carboplatina mostra o melhor efeito antitumoral *in vivo* em xenoenxertos derivados de células H1957. Enquanto a administração de paclitaxel e carboplatina reduziu o volume do tumor em comparação com o grupo veículo, o ABTL0812 administrado isoladamente mostrou uma redução semelhante do volume do tumor com uma tendência aprimorada, a combinação tripla ABTL0812 + paclitaxel e carboplatina apresentou a maior redução do volume do tumor, com diferença significativa. Além disso, foi observada uma ligeira diminuição no peso corporal durante a primeira semana de tratamento no grupo de combinação tripla, que se estabilizou durante o restante do experimento. (Não foi observada nenhuma redução no peso corporal ou nas contagens hematológicas (não mostradas) em nenhum dos grupos de tratamento, incluindo aqueles em que o ABTL0812 é administrado com docetaxel, sugerindo que essa combinação não teve efeitos tóxicos. Para mais

detalhes, ver a Figura 9 aqui).

[0428] **Conclusão:** O ABTL0812 administrado por via oral reduz o crescimento tumoral em modelos xenoenxertos de câncer de pulmão derivados de células H1975. Nesse modelo, o ABTL0812 possui uma eficácia semelhante ao SOC paclitaxel + carboplatina. Além disso, o ABTL0812 potencializa a atividade antitumoral de Paclitaxel/Carboplatina sem efeito tóxico. Esses resultados sugerem que uma terapia combinada de ABTL0812 mais Paclitaxel/Carboplatina pode ter interesse clínico no tratamento de câncer de pulmão.

2.4: Eficácia do ABTL0812 em combinação com pemetrexede e cisplatina em um xenoenxerto de adenocarcinoma humano NSCLC (A549) em camundongos

[0429] **Referência do estudo:** ABT-EI-052

[0430] **Local do estudo:** Protein Kinases & Cell Signaling Group, UAB

[0431] **Conformidade com GLP:** Não

[0432] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote K102E)

[0433] **Composto de referência:** Pemetrexede (Sigma Aldrich n° PHR1596) e Cisplatina (Sigma Aldrich n° P4394)

[0434] **Sistema de teste:** camundongos machos Nu/nu

[0435] **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia antitumoral do ABTL0812 sozinho ou em combinação com a quimioterapia padrão de tratamento pemetrexede e cisplatina para o tratamento do modelo xenoenxerto subcutâneo de câncer de pulmão em camundongos nus imunossuprimidos implantados com células de adenocarcinoma A549 de pulmão humano.

[0436] **Métodos:** A linha celular A549 foi cultivada rotineiramente em DMEM com 10% de FBS e as células em fase de crescimento exponencial foram colhidas e contadas para inoculação tumoral. 50

camundongos nus fêmea de 8 semanas de idade foram injetados em um flanco com 5×10^6 células MiaPaca2 suspensas em 50 μl de meio de crescimento sem FBS e 50 μl de Matrigel (Corning n° 354234). O volume do tumor foi monitorado 3 dias por semana e, quando os tumores atingiram 100 mm^3 (entre 50 e 150 mm^3), os animais foram distribuídos homogeneamente em três grupos de tratamento, mostrando um volume intragrupo médio semelhante, excluindo tumores menores que 50 mm^3 ou maiores que 150 mm^3 para minimizar a variabilidade.

[0437] Os grupos de tratamento foram:

[0438] Grupo veículo (n = 7): tratado oralmente com 200 μl de água + 5% de glicerol 4 vezes por semana e ip duas vezes por semana com 200 μl de solução salina (veículo de quimioterapia).

[0439] Pemetrexede/Cisplatina (n = 20): ip tratado duas vezes por semana com 100 μl de 100 mg/kg de pemetrexede e ip uma vez por semana com 100 μl de 2 mg/kg de cisplatina.

[0440] ABTL0812 + pemetrexede/cisplatina (n = 20): tratado oralmente com 200 μl de 120 mg/kg de ABTL0812 ressuspenso em água + glicerol a 5% 4 vezes por semana e ip com 100 μl de 100 mg/kg de pemetrexede e ip uma vez por semana com 100 μl de 2 mg/kg de cisplatina.

[0441] **Resultados:** Como visto na Figura 1, o ABTL0812 administrado em combinação com pemetrexede e cisplatina mostra um forte efeito antitumoral com potenciação do efeito terapêutico de pemetrexede/cisplatina, permitindo assim uma redução significativa no volume do tumor em comparação com o grupo de tratamento com pemetrexede/cisplatina. ABTL0812 + pemetrexede/cisplatina mostrou uma redução significativa do tumor em comparação com pemetrexede/cisplatina desde o dia 33 de tratamento, diferença que foi mais significativa nos dias seguintes até o último dia de tratamento no dia 41. Ambos os grupos de tratamento, pemetrexede/cisplatina e ABTL0812 + pemetrexede/cisplatina apresentaram redução significativa do volume do tumor em comparação com o

grupo veículo desde o dia 22 de tratamento até o último dia de tratamento no dia 41.

[0442] Em termos de toxicidade derivada de tratamentos, a Figura 2 mostra o curso do tempo do peso corporal total para todos os quatro grupos que foram monitorados ao longo dos 41 dias de tratamento. Embora não tenham sido observados sinais de toxicidade ou sintomas clínico-patológicos, foi observada uma ligeira diminuição durante a primeira semana de tratamento no grupo ABTL0812 + pemetrexede/cisplatina em comparação com o restante, devido à diminuição da ingestão de alimentos nos dias em que a quimioterapia foi administrada. Não foram observados sinais patológicos clínicos adicionais em nenhum dos grupos. Para mais detalhes, consulte a Figura 10 no presente documento.

[0443] **Conclusão:** Como descrito anteriormente, o ABTL0812 reduz o crescimento tumoral em modelos de xenoenxertos de câncer de pulmão derivados de células A549. Nesse modelo, o ABTL0812 potencializa a atividade antitumoral do pemetrexede e da cisplatina sem efeito tóxico. A terapia com pemetrexede e cisplatina é a opção de tratamento de primeira linha mais comum para pacientes com câncer de adenocarcinoma de pulmão, portanto, esses resultados sugerem que uma terapia combinada de ABTL0812 mais pemetrexede e cisplatina pode ter interesse clínico no tratamento de pacientes com câncer de pulmão.

2.5:

[0444] *Estudo da eficácia do ABTL0812 combinado com paclitaxel em um modelo ortotópico endometrial em camundongos*

[0445] **Local do estudo:** Xenopat (Barcelona, Espanha)

[0446] **Estudo GLP:** Não

[0447] **Compostos de teste:** ABTL0812 (lote 001R/2014), paclitaxel (Teva)

[0448] **Sistema de teste:** Camundongos fêmea

Athymic Nude-Foxn1nu

[0449] **Objetivo:** Avaliar a eficácia antitumoral do ABTL0812 administrado por via oral combinado ao paclitaxel ip no modelo ortotópico de câncer endometrial de Ishikawa.

[0450] **Métodos:** Camundongos fêmea foram implantados ortotopicamente no útero com um pedaço de 3 mm³ de tumor derivado da linha celular Ishikawa. Antes de iniciar o tratamento medicamentoso, todos os animais foram pesados e os volumes tumorais foram avaliados por palpação. Os camundongos foram divididos em grupos usando delineamento de blocos casualizados com base em seus volumes tumorais. O paclitaxel foi administrado ip a cada 7 dias (15 mg/kg). O ABTL0812 foi administrado por gavagem oral e seu esquema de administração é de 5 dias com 2 dias de folga (120 mg/kg/dia). No geral, os animais foram divididos em quatro grupos de administração, como mostrado na Tabela abaixo.

TABELA. GRUPOS DE ADMINISTRAÇÃO NO MODELO ORTOTÓPICO DE CÂNCER DE ENDOMÉTRIO.

Tratamento	Dose (mg/kg)	n	Rota de Dosagem	Agenda planejada
Veículo	-	7	og	QD 5 dias/2 dias de folga
Paclitaxel	15	9	ip	A cada 7 dias
ABTL	120	10	og	QD 5 dias/2 dias de folga
Paclitaxel/ABTL0812	15/120	10	ip/og	A cada 7 dias QD 5 dias/2 dias de folga

[0451] O volume do tumor foi estimado de acordo com a fórmula $V = \pi/6 \times L \times W^2$, em que L é o eixo geométrico longo e W é o eixo geométrico curto do tumor, respectivamente. No momento do monitoramento de

rotina, os animais foram verificados quanto aos efeitos do crescimento do tumor e dos tratamentos no comportamento normal, como mobilidade, estimativa visual de alimentos, ganho/perda de peso corporal (os pesos corporais foram medidos duas vezes por semana durante a administração do fármaco), colagem de olhos/cabelos e qualquer outro efeito anormal. A morte e os sinais clínicos observados foram registrados com base no número de animais dentro de cada subconjunto.

[0452] Dado que os tumores ortotópicos só podem ser medidos no sacrifício, um conjunto de animais (n = 2-3 por grupo) foi sacrificado após uma semana de tratamento para determinar os efeitos iniciais no crescimento do tumor. A maioria dos animais foi sacrificada após 3 semanas de tratamento (n = 5-7 por grupo).

[0453] **Resultados:** Um conjunto de camundongos (n = 36) foi implantado ortotopicamente com um fragmento de tumor derivado da linha celular Ishikawa de 3 mm³. Nenhum efeito no comportamento animal foi registrado durante todo o tratamento experimental. Os animais tratados com a combinação paclitaxel mostraram um ganho de peso tumoral reduzido e alguma perda de peso que foi parcialmente recuperada no final do período de tratamento. Dado que essa perda de peso em comparação com o grupo controle não atingiu 10%, não foi considerada tóxica. Os animais foram sacrificados após o tratamento medicamentoso ser administrado por uma ou três semanas e o volume do tumor determinado conforme indicado nos métodos. Não foram observadas diferenças nos animais tratados por uma semana. No entanto, nos animais que foram tratados por três semanas, foi observado um efeito aditivo nos animais tratados com a combinação paclitaxel + ABTL0812 - ver a Figura 11 neste documento.

[0454] **Conclusões:** A combinação ABTL0812 + paclitaxel demonstrou um efeito sinérgico versus o efeito de cada fármaco isoladamente, uma vez que foi observada uma redução significativa no volume do tumor nos animais tratados com a combinação versus animais de controle.

Ao mesmo tempo, foi observada alguma redução de peso corporal nos animais tratados com a combinação. No entanto, este efeito não foi considerado tóxico.

2.6:

[0455] *Estudo da eficácia do ABTL0812 combinado com paclitaxel e carboplatina em um modelo endometrial de xenoenxerto (PDX) derivado do paciente em camundongos*

[0456] **Referência do estudo:** ABT-EI-043

[0457] **Local do estudo:** VHIR

[0458] **Conformidade com GLP:** Não

[0459] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote K102E = MEI-014-15)

[0460] **Compostos de referência:** paclitaxel (Selleckchem nº S1150), carboplatina (Sigma Aldrich nº C2538)

[0461] **Sistema de teste:** camundongos fêmea Athymic Nude-Foxn1 nu

[0462] **Objetivo:** Investigar a atividade antitumoral do ABTL0812 sozinho e em combinação com paclitaxel e carboplatina (P/C) em um modelo PDX implantado subcutaneamente em camundongos nus.

[0463] **Métodos:** Um tumor removido cirurgicamente de um paciente com histologia serosa, grau IIIC2, 100% de invasão miometrial e invasão de linfonodos aórticos e pelve e aorta e espaço vascular linfático e portando mutações no gene p53 e PI3KCA foi implantado em um flanco de vários camundongos nus. Depois que os tumores cresceram até 100 mm³, os tumores foram extraídos de camundongos, picados em pedaços de 2 mm de comprimento e reimplantados em um flanco de 40 camundongos. Quando o volume médio do tumor atingiu 100 mm³, os camundongos foram distribuídos aleatoriamente nos grupos de tratamento e tratados da seguinte forma: veículo (n = 11); ABTL0812: 120 mg/kg por via oral, 5 vezes por semana (n = 10); paclitaxel/carboplatina (P/C): P: 50 mg/kg/C: 15 mg/kg intraperitoneal (n = 12); e ABTL0812 + P/C: ABTL0812 (n = 10) foi administrado sempre dois dias antes da

primeira administração de P/C e dois dias após, mantendo 4 doses de ABTL0812 e uma de P/C por semana; as doses eram as mesmas que quando administradas separadamente.

[0464] A eficácia da terapia foi medida pelo impacto do tratamento no crescimento do tumor, medido pelo seu volume. O estado de saúde dos animais e a toxicidade induzida pelo fármaco foram determinados pelo peso corporal do animal durante o estudo. A evolução do tamanho do tumor e o peso do tumor foram avaliados por ANOVA de duas vias (análise dia a dia).

[0465] Para simular o desenho do ensaio clínico de Fase II, em que o ABTL0812 será administrado cronicamente após os ciclos de P/C, o tratamento P/C foi removido dos grupos P/C e ABTL0812 + P/C, mantendo o ABTL0812 cronicamente. O volume do tumor foi medido após a remoção do tratamento P/C durante 17 dias extras.

[0466] **Resultados:** Um conjunto de 40 camundongos foi distribuído aleatoriamente em quatro grupos de tratamento quando os tumores atingiram cerca de 100 mm³. Como mostrado na Figura 12 deste documento, 47 dias após o início do tratamento, o ABTL0812 + P/C mostrou a maior eficácia e redução estatisticamente significativa do crescimento do tumor em comparação com o veículo, ABTL0812 sozinho e P/C sozinho. O resultado terapêutico melhorado não foi associado a sinais aumentados de toxicidade, como visto pela ausência de perda de peso significativa no peso corporal total. O ABTL0812 administrado isoladamente mostra a mesma eficácia que o P/C, sem quaisquer sinais de toxicidade relevante.

[0467] No dia 47, a administração de P/C foi interrompida, enquanto o ABTL0812 era mantido cronicamente 5 dias por semana para determinar se a administração mantida do ABTL0812 pode evitar ou retardar a recaída do tumor. Quanto ao grupo P/C, onde os camundongos pararam de receber tratamento, o tumor continuou a crescer com inclinação semelhante ou ligeiramente mais alta, o grupo ABTL0812 + P/C que manteve a administração do ABTL0812, não apenas não mostrou aumento na taxa de

crescimento do tumor, mas também mostrou sinais de remissão. O grupo ABTL0812, que manteve o ABTL0812 durante todo o experimento, mostrou uma inibição do crescimento do tumor muito semelhante ao P/C, mantendo uma inclinação de crescimento constante, indicativo de nenhum sinal de processo de resistência que aumentaria a taxa de crescimento.

[0468] **Conclusão:** A combinação ABTL0812 + P/C mostrou um efeito sinérgico, mostrando uma redução significativa no volume do tumor em comparação com o P/C sozinho, o que também mostra uma redução significativa no volume do tumor em comparação ao grupo veículo nos primeiros 47 dias. O ABTL0812 administrado em monoterapia mostra a mesma eficácia na redução do crescimento tumoral que a obtida pela administração de P/C. A redução do peso corporal foi observada parcialmente apenas no grupo ABTL0812 no dia 15, recuperando essa redução no peso nos próximos quatro dias e mantendo-se estável durante o restante do experimento. Nenhum dos outros grupos mostrou qualquer efeito considerado tóxico.

[0469] Em uma tentativa de simular o ensaio clínico de Fase II em humanos, onde o ABTL0812 será administrado em combinação com P/C como primeira linha e o ABTL0812 permanecerá cronicamente após os ciclos de quimioterapia, removemos o tratamento com P/C no dia 47, mantendo o ABTL0812. Embora o crescimento tumoral de P/C e ABL0812 não tenha sido reduzido, a administração crônica de ABTL0812 é eficaz para evitar a recaída do tumor após o tratamento de P/C neste PDX endometrial humano, mostrando sinais de remissão 10 dias após a remoção da quimioterapia.

2.7:

[0470] *Estudo de eficácia de ABTL0812 administrado em combinação com Paclitaxel/Gencitabina (P/Gm) em um modelo de xenoenxerto pancreático humano em camundongos implantados com células MiaPaca-2*

[0471] **Referência do estudo:** ABT_EI_001_XP

[0472] **Local do estudo:** Ability Virtual Lab - UAB

- [0473] **Conformidade com GLP:** Não
- [0474] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote K102E = MEI-014-15)
- [0475] **Composto de referência:** Paclitaxel/Gencitabina (P/Gm)
- [0476] **Sistema de teste:** camundongos fêmeas Athymic Nu-Foxn1nu
- [0477] **Objetivo:** Avaliar a eficácia antitumoral do ABTL0812 por via oral em combinação com P/Gm em um modelo de camundongo com xenoenxerto MiaPaCa2 de câncer de pâncreas. P/Gm administrado ip foi usado como controle positivo, juntamente com o veículo, ABTL0812 e a combinação de ABTL0812 + P/Gm. A eficácia foi avaliada pelo crescimento do tumor, e a tolerabilidade do composto e a toxicidade pela evolução do peso do animal.
- [0478] **Métodos:** Camundongos fêmeas nus atímicos (n = 9 por grupo) foram injetados por via subcutânea com 0,1 ml de células MiaPaca2 (5x10⁶ células/ml em meio DMEM isento de soro em 1:1 com matrigel) em um flanco. Os volumes tumorais (TV) foram medidos como comprimento x largura² x 1/2 três vezes por semana. Quando o volume médio do tumor atingiu 100 mm³, os camundongos foram distribuídos aleatoriamente em grupos de tratamento e doseados como se segue: veículo; ABTL0812 120 mg/kg, 5 vezes por semana; P/Gm 15 mg/kg e 60 mg/kg duas vezes por semana e a combinação de ABTL0812 + P/Gm, em que ABTL0812 foi administrado quatro vezes por semana (dias 1, 2 4 e 5), sempre dois dias antes da administração de P/Gm (dias 3 e 6) por um total de 4 semanas.
- [0479] A eficácia da terapia foi medida pelo impacto do tratamento no crescimento do tumor, medido pelo seu volume. O estado de saúde dos animais e a toxicidade induzida pelo fármaco foram determinados pelo peso corporal do animal durante o estudo. A evolução do tamanho do tumor foi avaliada por ANOVA a dois fatores (análise dia a dia) e pelo teste t de Student

em dias com diferenças significativas.

[0480] **Resultados:** Os gráficos da Figura 13 aqui mostram o efeito de ABTL0812 administrado por via oral em combinação com P/Gm no volume relativo do tumor e no peso corporal total como uma medida de toxicidade. O ABTL0812 em combinação com P/Gm mostra a maior eficácia, reduzindo significativamente o volume do tumor em comparação com P/Gm sozinho nos horários indicados. Além disso, o tratamento combinado ABTL0812 + P/Gm mostra regressão tumoral em todos os animais a partir do dia 10 após o tratamento, ao contrário do observado com o restante dos grupos. O ABTL0812 sozinho parece ter um efeito positivo nos primeiros 15 dias após o tratamento, mostrando um volume tumoral semelhante ao do veículo nos dias seguintes. O tratamento com P/Gm nas doses indicadas reduz o volume do tumor em comparação com o veículo e os grupos ABTL0812, mas sem significância estatística a qualquer momento analisado. No gráfico do peso corporal total, podemos ver o impacto da combinação de ABTL0812 + P/Gm no peso corporal total em comparação com o restante dos grupos. Embora exista uma leve perda de peso após as primeiras doses de ABTL0812 + P/Gm, a toxicidade derivada da combinação foi mínima e efeitos tóxicos agudos não estavam presentes em nenhum dos animais durante o experimento.

[0481] **Conclusão:** A combinação ABTL0812 + P/Gm demonstrou um efeito sinérgico com uma redução significativa do volume do tumor em comparação com P/Gm isoladamente. P/Gm também mostra uma redução maior no volume do tumor em comparação com o veículo e os grupos ABTL0812, embora não seja estatisticamente significativo. O ABTL0812 administrado em monoterapia mostra a mesma curva de crescimento tumoral que aquela obtida com o grupo veículo. Vale ressaltar que o tratamento com ABTL0812 + P/Gm pode induzir regressão tumoral em todos os animais individuais tratados com a combinação, mantendo o volume do tumor em torno de 100 mm³ até o dia 10 do tratamento e abaixo de 100 mm³ após o dia 10 do tratamento, indicativo de regressão tumoral. A redução do peso corporal foi

observada parcialmente no grupo ABTL0812 + P/Gm, embora nenhum dos camundongos de qualquer grupo tenha mostrado qualquer efeito considerado tóxico.

2.8:

[0482] *Estudo de eficácia de ABTL0812 administrado em combinação com Nab-Paclitaxel/Gencitabina (Nab-Pac/Gm) em um modelo de xenoenxerto pancreático humano em camundongos implantados com células MiaPaca-2*

[0483] **Referência do estudo:** ABT-EI-053

[0484] **Local do estudo:** Ability Virtual Lab - UAB

[0485] **Conformidade com GLP:** Não

[0486] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote K102E = MEI-014-15)

[0487] **Composto de referência:** Cloridrato de gencitabina (Sigma Aldrich G6423). Nab-Paclitaxel (Abraxane; ID: 3369272 Celgene)

[0488] **Sistema de teste:** camundongos fêmea Athymic Nude-Foxn1nu

[0489] **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia e segurança do ABTL0812 administrado por via oral para potencializar os efeitos antitumorais da quimioterapia com quimioterapia Standard of Care (SOC) e da gencitabina e da combinação gencitabina/Nab-Paclitaxel administrados por via intraperitoneal (ip), em um modelo de xenoenxerto pancreático humano vivo em camundongos nus imunossuprimidos implantados com células MiPaca2. Ambas as opções de quimioterapia são a terapia de primeira linha mais comum para o tratamento de câncer de pâncreas avançado em humanos.

[0490] **Métodos:** A linha celular MiaPaca2 foi cultivada rotineiramente e as células em fase de crescimento exponencial foram colhidas e contadas para inoculação tumoral. 55 camundongos nus atímicos

imunodeficientes foram injetados subcutaneamente com 5×10^6 células MiaPaca2 suspensas em 50 μ l de meio de crescimento sem FBS e 50 μ l de Matrigel (Corning n° 354234) no flanco único. O volume do tumor foi monitorado 3 dias por semana e, quando os tumores atingiram 100 mm^3 (entre 50 e 150 mm^3), os animais foram distribuídos homoganeamente em seis grupos de tratamento, mostrando um volume intragrupo médio semelhante e excluindo tumores menores que 50 mm^3 ou maiores que 150 mm^3 para minimizar a variabilidade. Os grupos de tratamento foram:

[0491] - Grupo veículo (n = 9): tratado oralmente com 200 μ l de água + 5% de glicerol 5 vezes por semana (veículo ABTL0812) e ip duas vezes por semana com 200 μ l de solução salina (veículo de quimioterapia).

[0492] - ABTL0812 (n = 9): tratado oralmente com 120 mg/kg em 200 μ l de água destilada + 5% de glicerol, 5 vezes por semana.

[0493] - Gencitabina (n = 9): ip tratado com 60 mg/kg em 100 μ l de água estéril, 2 vezes por semana.

[0494] - Gencitabina + Nab-Paclitaxel (n = 8): O Nab-Paclitaxel foi preparado a partir de um estoque de pó (10% (m/m) em solução de NaCl a 0,9% e administrado ip a 5 mg/kg em 230 μ l, 2 vezes a semana. A gencitabina foi administrada ip a 60 mg/kg em 100 μ l de água estéril, 2 vezes por semana. É importante alterar o local da injeção para evitar necrose intestinal e manter as injeções de Nab-Paclitaxel e gencitabina o mais longe possível uma da outra no abdômen de camundongos.

[0495] - Gencitabina + ABTL0812 (n = 10): tratado oralmente com 120 mg/kg de ABTL0812 em 200 μ l de água destilada + 5% de glicerol, 5 vezes por semana e com 60 mg/kg de gencitabina administrado ip em 100 μ l de água estéril, 2 vezes por semana. O ABTL0812 sempre foi administrado antes da quimioterapia, com o objetivo de reduzir o estresse derivado da injeção ip, que é normalmente aplicada na última administração.

[0496] - Gencitabina + Nab-Paclitaxel + ABTL0812 (n = 8): tratado oralmente com 120 mg/kg de ABTL0812 em 200 μ l de água

destilada + 5% de glicerol, 5 vezes por semana, com 60 mg/kg de gencitabina administrada ip em 100 µl de água esterilizada, 2 vezes por semana e com 5 mg/kg de Nab-Paclitaxel administrado ip em 230 µl de solução de NaCl a 0,9%, 2 vezes por semana. Como no grupo gencitabina + Nab- Paclitaxel, as injeções foram administradas em áreas separadas do abdômen. O ABTL0812 foi sempre administrado antes da quimioterapia, com o objetivo de reduzir o estresse derivado da injeção ip.

[0497] A eficácia do tratamento foi avaliada medindo o volume do tumor três dias por semana. Além disso, o peso corporal total foi monitorado três dias por semana para testar a toxicidade associada aos tratamentos, além do exame visual de sinais indicativos de sintomas clínico-patológicos. No final do estudo, os camundongos foram sacrificados por inalação de dióxido de carbono e a morte foi confirmada ainda mais por deslocamento cervical.

[0498] **Resultados:** Selecionamos uma dose subótima de quimioterapia (com base na bibliografia) com o objetivo de não ter uma resposta antitumoral forte que pudesse ser potencializada por ABTL0812, permitindo assim uma redução da dose de quimioterapia e consequentemente diminuindo seus eventos adversos indesejados.

[0499] A Figura 14 mostra a progressão do volume do tumor de um xenoinxerto derivado de MiaPaca2 tratado com diferentes regimes de quimioterapia, ABTL0812 ou a combinação de ambos. A Figura 14A mostra a progressão do volume do tumor de xenoinxertos tratados com gencitabina + Nab-Pac em comparação com o tratamento com gencitabina + Nab-Pac + ABTL0812, além do ABTL0812 e tratamentos com veículo. Quando comparado ao grupo veículo, apenas a combinação tripla Gem + Nab-Pac + ABTL0812 mostra uma redução significativa do volume tumoral, a partir do dia 22 e mantendo essa significância estatística até o final do estudo, com os últimos cinco dias de tratamento mostrando a maior diferença de volume do tumor e em contraste com o grupo Gem + Nab-Pac, que não mostra diferença significativa

no volume do tumor em comparação com o grupo veículo. Ao comparar Gem + Nab-Pac + ABTL0812 versus Gem + Nab-Pac, a combinação tripla reduz significativamente o volume do tumor no último dia dos tratamentos. Também pode ser observado que o ABTL0812 administrado isoladamente mostra uma melhor resposta na evolução do volume tumoral do que o grupo Gem + Nab-Pac durante os primeiros 20 dias de tratamento, obtendo evolução semelhante do volume tumoral para o restante do estudo, embora nenhuma diferença significativa tenha sido observada a qualquer momento.

[0500] A Figura 14B mostra a progressão do volume do tumor de xenoenxertos tratados com gencitabina em comparação com o tratamento com gencitabina + ABTL0812, além do ABTL0812 e tratamentos com veículo. Quando comparado ao grupo veículo, apenas a combinação dupla Gem + ABTL0812 mostra uma redução significativa do volume tumoral, a partir do dia 17 e mantendo essa significância estatística até o final do estudo, em contraste com o grupo gencitabina, que não mostra diferença significativa no volume do tumor comparado com o grupo do veículo. Ao comparar Gem versus Gem + ABTL0812, a combinação dupla reduz significativamente o volume do tumor no último dia dos tratamentos. Também pode ser observado que o ABTL0812 administrado isoladamente mostra uma melhor resposta na evolução do volume do tumor do que o grupo Gem durante todo o estudo, embora não tenham sido observadas diferenças significativas em nenhum momento.

[0501] O peso corporal total dos camundongos foi monitorado três vezes por semana durante todo o estudo. A Figura 14C mostra a evolução do peso corporal total para Gem + Nab-Pac e Gem + Nab-Pa + ABTL0812, além dos grupos veículo e ABTL0812, e a Figura 14D mostra o peso corporal total evolução para Gem e Gem + ABTL0812, além de veículo e grupos ABTL0812. Não foram observados sinais de toxicidade em nenhum dos grupos em termos de perda de peso corporal, com todos os grupos mostrando ganho de peso durante todo o estudo, indicativo de falta de toxicidade associada aos tratamentos. Não foram observados sinais patológicos clínicos adicionais em

nenhum dos grupos. Para mais detalhes, consultar a Figura 14.

[0502] **Conclusão:** Este estudo foi desenhado para determinar a eficácia do ABTL0812 sozinho ou combinado com a quimioterapia SOC no tratamento do câncer de pâncreas avançado. A gencitabina em combinação com Nab-Paclitaxel ou Gencitabina sozinha é o tratamento de escolha para a maioria dos pacientes com câncer de pâncreas avançado, por isso avaliamos a potencialização de ambos os tratamentos por sua combinação com ABTL0812 e pelo uso de doses subótimas de quimioterapia, permitindo uma redução dos indesejáveis efeitos secundários. O ABTL0812 potencializa ambos os tratamentos de quimioterapia enquanto reduz a toxicidade, mostrando a maior redução de volume de tumor em comparação com o veículo e com o tratamento de quimioterapia sozinho. Além disso, o ABTL0812 administrado isoladamente mostra eficácia semelhante ao tratamento quimioterápico e nenhum sinal clínico-patológico ou de toxicidade em termos de peso corporal total foi observado em nenhum dos grupos de tratamento.

2.9:

[0503] *Estudo da eficácia de ABTL0812 no modelo de xenoenxerto de neuroblastoma (sensível à cisplatina) sozinho ou em combinação com cisplatina*

[0504] **Referência do estudo:** caderno ABTL0812, páginas 20 a 36

[0505] **Local do estudo:** Laboratory of Translational Research in Pediatric Cancer em Vail d'Hebron Research Institute

[0506] **Conformidade com GLP:** Não

[0507] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote 002/2013)

[0508] **Composto de referência:** Cisplatina (Sigma nº C2210000)

[0509] **Sistema de teste:** camundongos fêmea Nu/nu, linha celular SH-SY5Y

[0510] **Objetivo:** Determinar a eficácia do ABTL0812 na linha de células do neuroblastoma SH-SY5Y isoladamente ou em combinação com a cisplatina.

[0511] **Métodos:** Os camundongos NMRI-Foxn1^{nu}/Foxn1^{nu} atímicos imunodeficientes foram injetados subcutaneamente com células SH-SY5Y. Essa linhagem celular foi geneticamente modificada para expressar luciferase, o que permitiria o estudo *in vivo* não apenas do tamanho do tumor, mas também da formação de metástases. Quando os tumores atingiram um volume médio de 80 mm³, os camundongos foram distribuídos aleatoriamente em diferentes grupos de tratamento. O ABTL0812 foi administrado por via oral a 120 mg/kg diariamente. Paralelamente, utilizamos a cisplatina, um fármaco incluído na fase de indução da quimioterapia para o tratamento do neuroblastoma. A cisplatina foi administrada ip a 2 mg/kg duas vezes por semana (Wang et al. 2010). Além disso, estudou-se o efeito da combinação do ABTL0812 com cisplatina nas doses indicadas.

[0512] **Resultados: A. Tamanho do tumor.** Esse experimente revelou que o ABTL0812 inibe a progressão do tumor com uma eficácia semelhante à cisplatina. Após dez dias de tratamento, os animais do grupo controle tiveram que ser sacrificados, devido a questões éticas relacionadas ao tamanho dos tumores. Nesse momento, metade dos animais nos grupos tratados foram sacrificados para medir o peso do tumor, parâmetros hematológicos e formação de metástases (ver abaixo). A escolha dos animais para sacrifício nesses grupos foi realizada de acordo com a distribuição estatística do tamanho do tumor. A medição do peso do tumor dos camundongos sacrificados confirmou a observação de que a eficácia do ABTL0812 é semelhante ao padrão de tratamento da cisplatina. A análise do volume do tumor nos animais restantes nos grupos de tratamento (aproximadamente 5 camundongos por grupo) revelou que a combinação de ABTL0812 com cisplatina resulta em uma estabilização a longo prazo do crescimento do tumor. O monitoramento do peso corporal indicou que o tratamento com

ABTL0812 induz transitoriamente uma pequena perda de peso corporal (<10%). Este efeito é, no entanto, recuperado após alguns dias. Ver a Figura 15 no presente documento para mais detalhes.

[0513] **B. Perfil de segurança.** A análise hematológica para avaliar a segurança dos tratamentos mostra que o ABTL0812 não teve impacto no hematócrito sanguíneo; no entanto, a cisplatina induziu anemia e reduziu a contagem de glóbulos brancos (consulte a tabela abaixo). A anemia associada à cisplatina é um efeito colateral frequente observado em pacientes tratados com este fármaco quimioterápico (Wood e Hrushesky 1995).

[0514] Tabela. Análise hematológica de animais no modelo xenoenxerto SH-SY5Y. O sangue foi coletado dos animais no momento do sacrifício e a composição do sangue foi determinada com um analisador automático. * $p < 0,05$ por ANOVA seguido por Bonferroni.

Parâmetro	Veículo	ABTL0812	Cisplatina	ABTL0812+Cisplatina
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	$7,9 \pm 1,0$	$7,9 \pm 0,4$	$6,8 \pm 0,9^*$	$8,4 \pm 1,1$
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	$3,8 \pm 1,4$	$3,9 \pm 1,3$	$3,0 \pm 0,6$	$2,9 \pm 1,5$
Hematócrito (%)	$41,5 \pm 4,3$	$40,2 \pm 1,4$	$37,3 \pm 2,7$	$43,4 \pm 5,3$

[0515] **C. Formação de metástases.** A fim de investigar o efeito de ABTL0812 na formação de metástases, usamos uma linha celular SH-SY5Y transduzida com um vetor repórter de luciferase. Como descrito acima, os camundongos portadores de tumores xenoenxertos derivados desta linha celular foram tratados com ABTL0812, cisplatina ou a combinação de ambos os fármacos. Após dez dias de tratamento, os animais foram sacrificados e as metástases foram avaliadas *ex vivo*, monitorando as células que expressam luciferase no pulmão e no fígado. Essas análises mostraram que o ABTL0812, como um agente único ou em combinação com a cisplatina, inibiu a formação de metástases nesses órgãos. Por outro lado, a cisplatina sozinha não teve efeito significativo na inibição da formação de metástases em comparação com animais tratados com veículo.

[0516] **Conclusão:** O ABTL0812, como agente único,

tem eficácia comparável à cisplatina, mantendo um melhor perfil de segurança em relação aos parâmetros hematológicos. Curiosamente, a combinação de ABTL0812 com cisplatina resulta na estabilização da progressão do tumor por um período mais longo. Além disso, o ABTL0812 inibiu a formação de metástases espontâneas em modelos de neuroblastoma em camundongos, enquanto a cisplatina não. Esses dados apoiam ainda que o ABTL0812 poderia ter efeitos terapêuticos aprimorados em comparação com os atuais tratamentos quimioterápicos à base de platina.

2.10:

[0517] *Eficácia do ABTL0812 em combinação com doxorrubicina em um xenoenxerto de câncer de mama triplo negativo humano (MDA-MB-231) em camundongos*

[0518] **Referência do estudo:** Pendente

[0519] **Local do estudo:** Laboratório Ability na UAB.

[0520] **Conformidade com GLP:** Não

[0521] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote 002/2012)

[0522] **Compostos de referência:** Doxorrubicina (sigma nº D1515)

[0523] **Sistema de teste:** camundongos macho Nu/nu

[0524] **Objetivo:** Investigar a atividade antitumoral de ABTL0812 sozinho e em combinação com doxorrubicina em um xenoenxerto humano triplo negativo para câncer de mama.

[0525] **Métodos:** A linha celular MDA-DB-231 foi cultivada rotineiramente em DMEM 10% FBS e as células em fase de crescimento exponencial foram colhidas e contadas para inoculação tumoral. Os camundongos foram injetados em um flanco com $2,5 \times 10^6$ células MDA-DB-231 suspensas em 50 μ l de meio de crescimento sem FBS e 50 μ l de Matrigel (Corning nº 354234). O volume do tumor foi monitorado 3 dias por semana e, quando os tumores atingiram 100 mm³ (entre 50 e 150 mm³), os animais foram

distribuídos homogeneamente em quatro grupos de tratamento, mostrando um volume intragrupo médio semelhante, excluindo tumores menores que 50 mm³ ou maiores que 150 mm³ para minimizar as variabilidades.

[0526] Os grupos de tratamento foram:

[0527] - Grupo veículo (n = 7): tratado oralmente com 200 µl de água + 5% de glicerol quatro dias por semana e duas injeções ip de 100 µl de solução salina uma vez por semana

[0528] - ABTL0812 (n = 9): tratado oralmente com 200 µl de 120 mg/kg de ABTL0812 ressuspenso em água + glicerol a 5%, 5 vezes por semana

[0529] - Doxorrubicina (n = 9): tratada com 100 µl de 2 mg/kg de doxorrubicina administrada ip uma vez por semana

[0530] - ABTL0812 + doxorrubicina (n = 9): tratado oralmente com 200 µl de 120 mg/kg de ABTL0812 quatro dias por semana e 100 µl de 2 mg/kg de doxorrubicina ip uma vez por semana

[0531] **Resultados:** ABTL0812 administrado em combinação com doxorrubicina mostra o melhor efeito antitumoral *in vivo* em xenoenxertos derivados de células MDA-DB-231. O ABTL0812 administrado isoladamente mostrou uma redução do volume tumoral semelhante à doxorrubicina isolada, mas a combinação dupla ABTL0812 com doxorrubicina mostra a maior redução do volume tumoral com diferença significativa no final do estudo. Todos os grupos de tratamento apresentaram evolução semelhante do peso corporal total, indicativo de falta de toxicidade associada aos tratamentos. Para mais detalhes, ver a Figura 16 no presente documento.

[0532] **Conclusões:** Como descrito anteriormente, o ABTL0812 reduz o crescimento tumoral em modelos xenoenxertos de câncer de mama derivados de células MDA-DB-231. Nesse modelo, o ABTL0812 potencializa a atividade antitumoral da doxorrubicina. A terapia com doxorrubicina é uma opção de tratamento comum para pacientes com câncer de mama, portanto, esses resultados sugerem que uma terapia combinada de

ABTL0812 mais doxorrubicina poderia ter interesse clínico no tratamento de pacientes com câncer de mama.

2.11:

[0533] *Eficácia do ABTL0812 em combinação com gencitabina e cisplatina em um xenoenxerto de colangiocarcinoma humano (EGI-1) em camundongos*

[0534] **Referência do estudo:** ABT-EI

[0535] **Local do estudo:** Grupo de Doenças do Fígado no Instituto de Pesquisa em Saúde Biodonostia

[0536] **Conformidade com GLP:** Não

[0537] **Composto de teste:** ABTL0812 (lote 002/2012)

[0538] **Compostos de referência:** Cloridrato de gencitabina (Sigma Aldrich G6423) e cisplatina (Sigma nº 02210000)

[0539] **Sistema de teste:** camundongos macho Nu/nu

[0540] **Objetivo:** Investigar a atividade antitumoral do ABTL0812 sozinho e em combinação com gencitabina e cisplatina em um xenoenxerto de colangiocarcinoma humano. A combinação de gencitabina e cisplatina é uma das terapias de referência para o tratamento do colangiocarcinoma.

[0541] **Métodos:** A linha celular EGI-1 foi cultivada rotineiramente em DMEM 10% FBS e as células em fase de crescimento exponencial foram colhidas e contadas para inoculação tumoral. Os camundongos foram injetados em um flanco com 1×10^6 células H1957 suspensas em 50 μ l de meio de crescimento sem FBS e 50 μ l de Matrigel (Corning nº 354234). O volume do tumor foi monitorado 3 dias por semana e, quando os tumores atingiram 100 mm³ (entre 50 e 150 mm³), os animais foram distribuídos homogeneamente em quatro grupos de tratamento, mostrando um volume intragrupo médio semelhante, excluindo tumores menores que 50 mm³ ou maiores que 150 mm³ para minimizar as variabilidades.

[0542] Os grupos de tratamento foram:

[0543] - Grupo veículo (n = 8): tratado oralmente com 200 µl de água + 5% de glicerol quatro dias por semana e duas injeções ip de 100 µl de solução salina uma vez por semana

[0544] - ABTL0812 (n = 8): tratado oralmente com 200 µl de 120 mg/kg de ABTL0812 ressuspenso em água + 5% de glicerol, 5 vezes por semana

[0545] - Gencitabina/cisplatina (n = 8): tratado com 100 µl de 50 mg/kg de gencitabina administrada ip e 100 µl de 2 mg/kg de cisplatina administrada ip uma vez por semana

[0546] - ABTL0812 + gencitabina/cisplatina (n = 8): tratado oralmente com 200 µl de 120 mg/kg de ABTL0812 quatro dias por semana e 100 µl de 50 mg/kg de gencitabina administrada ip e 100 µl de 2 mg/kg de cisplatina administrada ip uma vez uma semana

[0547] **Resultados:** O ABTL0812 administrado em combinação com gencitabina e cisplatina mostra o melhor efeito antitumoral *in vivo* em xenoenxertos derivados de células EGI-1. A administração de gencitabina e cisplatina reduziu o volume do tumor em comparação com o grupo veículo, embora sem diferença estatisticamente significativa, em contraste com o tratamento com ABTL0812 + gencitabina e cisplatina, que mostrou redução estatisticamente significativa do volume do tumor em comparação com o veículo, o ABTL0812 administrado isoladamente não mostrou redução do volume do tumor comparado ao veículo até o último dia de tratamento, onde mostrou um volume tumoral semelhante ao do grupo quimioterápico. Para mais detalhes, consultar a Figura 17.

[0548] **Conclusões:** Como descrito anteriormente, o ABTL0812 reduz o crescimento do tumor em modelos xenoenxertos de colinocarcinoma derivado de células EGI-1. Neste modelo, o ABTL0812 potencializa a atividade antitumoral da administração de gencitabina e cisplatina, a terapia com gencitabina e cisplatina é uma opção de tratamento comum para

pacientes com colangiocarcinoma, portanto, esses resultados sugerem que uma terapia combinada de ABTL0812 mais gencitabina e cisplatina poderia ter um interesse clínico para o tratamento de pacientes com colangiocarcinoma.

EXEMPLO 3: *Toxicidade da combinação com quimioterapia*

[0549] Informações sobre a toxicidade de ABTL0812 combinada com agentes quimioterápicos foram obtidas durante os estudos de eficácia realizados em camundongos imunossuprimidos. Foi realizado um estudo toxicológico específico da combinação de ABTL0812 +/- paclitaxel +/- carboplatina.

[0550] **Referência do estudo:** N-02220

[0551] **Local do estudo:** Vivotecnia (Madri, Espanha)

[0552] **Estudo de GLP:** Não

[0553] **Compostos de teste:** ABTL0812 (lote 001R/2014), paclitaxel (Aurovitas, lote 68J5041), carboplatina (Sigma-Aldrich, lote LSBL7058v)

[0554] **Sistema de teste:** camundongos CD-1 fêmea, 12 semanas de idade.

[0555] **Objetivo:** Determinação do perfil toxicológico de ABTL0812 em combinação com carboplatina e paclitaxel após duas semanas de administração.

[0556] **Métodos:** Quarenta e cinco camundongos CD-1 fêmea foram distribuídos por meio do método de estratificação do peso corporal em nove grupos experimentais (A-I) (5 animais por grupo) que diferiram no tratamento ou no dia em que os itens de referência (paclitaxel e carboplatina) foram administrados.

[0557] [568] A tabela abaixo resume os grupos de tratamento. Observa-se que o mesmo esquema de administração e doses foram administrados nos estudos de eficácia anteriores.

TABELA. GRUPOS DE TRATAMENTO PARA AVALIAR A

TOXICIDADE DE ABTL0812, PACLITAXEL, CARBOPLATINA E SUA COMBINAÇÃO EM CAMUNDONGOS.

Grupo	Tratamento	Dose (mg/kg)	Horário (dia do estudo)	
			1º período	2º período
A	Veículo	-	2-6	9-13
B	ABTL0812 (po)	120	2-6	9-13
C	Paclitaxel (ip)	15	2	9
D	Carboplatina (ip)	50	2	9
E	Paclitaxel (ip)	15	2	9
	Carboplatina (ip)	50	2	9
F	ABTL0812 (po)	120	2-6	9-13
	Paclitaxel (ip)	15	2	9
	Carboplatina (ip)	50	2	9
G	ABTL0812 (po)	120	2-6	9-13
	Paclitaxel (ip)	15	1	8
	Carboplatina (ip)	50	1	8
H	ABTL0812 (po)	120	2-6	9-13
	Paclitaxel (ip)	15	2	9
I	ABTL0812 (po)	120	2-6	9-13
	Carboplatina (ip)	50	2	9

[0558] A avaliação de segurança baseou-se na mortalidade observada, sinais clínicos locais e sistêmicos, peso corporal e consumo de alimentos registrados ao longo de todo o estudo. Além disso, as determinações da patologia clínica (bioquímica e hematologia) foram realizadas antes do sacrifício em todos os animais. No final do período de observação (um dia após a última administração), todos os animais sobreviventes foram sacrificados e submetidos a uma necropsia grosseira. Além disso, a avaliação de segurança também foi baseada no peso de órgãos-alvo selecionados coletados no sacrifício.

[0559] **Resultados:** O tratamento oral repetido com o

item de teste e o tratamento intraperitoneal com itens de referência não causaram mortalidade. Não foram registrados sinais clínicos locais nem sistêmicos relacionados ao tratamento.

[0560] Pequenas diferenças no ganho médio de peso corporal foram observadas nos animais ao longo do estudo. A maioria dos animais apresentou tendência a diminuir o peso corporal nos primeiros quatro dias do estudo, exceto os animais do grupo A (grupo controle) e do grupo C (tratados com uma dose de paclitaxel uma vez por semana). No entanto, na maioria dos animais, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no ganho absoluto de peso corporal durante todo o período do estudo. Somente os animais do grupo F, que foram administrados com dose oral de ABTL0812 uma vez ao dia por dois períodos de 5 dias e uma dose intraperitoneal de paclitaxel e carboplatina uma vez por semana (no mesmo dia em que a primeira dose oral de cada período) tiveram uma acentuada diminuição do ganho de peso corporal durante todo o período do estudo, quando comparado a vários grupos de animais (grupo A tratado com veículo, grupo C tratado com paclitaxel e grupo E tratado com uma combinação de paclitaxel e carboplatina).

[0561] Embora não tenha sido possível realizar análises estatísticas devido ao pequeno tamanho da amostra, o consumo estimado de alimentos pareceu ser maior nos animais do grupo A do que nos demais. Em relação aos parâmetros bioquímicos clínicos, os níveis mais baixos de creatinina e triglicerídeos foram registrados na maioria dos grupos quando comparados com o grupo controle. Por outro lado, foi observada uma diminuição estatisticamente significativa nos níveis de hematócrito (para animais do grupo F) e nos níveis de plaquetas nos grupos tratados com uma combinação de dose oral de ABTL0812 e dose intraperitoneal de paclitaxel e carboplatina (animais dos grupos F e G) quando comparado com o grupo controle. Embora esses valores estivessem dentro da faixa normal, não foi possível excluir um efeito do tratamento nos parâmetros da patologia clínica.

[0562] As observações macroscópicas na necropsia

de todos os animais sacrificados no final do tratamento não revelaram alterações relevantes consideradas relacionadas ao item de teste. Foi observada a presença de áreas brancas no fígado do animal ID32 e pigmentação no pâncreas dos animais ID33. Além disso, os pesos absolutos e relativos dos órgãos foram semelhantes entre os grupos de tratamento.

[0563] A tabela abaixo resume as descobertas mais significativas do ponto de vista de segurança.

TABELA. ACHADOS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS MAIS RELEVANTES NO ESTUDO TOXICOLÓGICO DE ABTL0812 E SUA COMBINAÇÃO COM PACLITAXEL E CARBOPLATINA

Grupo	Tratamento (dia para PTX/CP)	Ganho de Peso corporal (g)		Bioquímica			Hematologia		
		D 1-4	D 8-11	Ureia mmol/l	Creat μ mol/l	Triglic mmol/l	WBC $\times 10^3/\mu$ l	RBC $\times 10^6/\mu$ l	PLT $\times 10^3/\mu$ l
A	Controle	0,784	0,630	8,10	14,35	2,31	6,96	9,24	1.055
B	ABTL	-0,804	0,138	3,66	9,18	0,94	5,94	9,57	1.293
C	PTX, D2/9	0,354	0,442	9,50	9,74	1,31	6,28	9,59	1.378
D	CP, D2/9	-0,626	-0,450	9,50	8,83	1,35	7,09	8,40	790
E	PTX + CP, D2/9	-0,612	0,232	8,26	8,86	1,26	6,37	8,49	740
F	ABTL + PTX + CP, D2/9	-1,322	-0,540	6,82	9,07	1,00	4,53	8,41	470
G	ABTL + PTC + CP, D1/8	-0,468	-0,116	6,05	9,24	1,20	6,25	8,82	443
H	ABTL + PTX, D2/9	-1,342	0,020	6,86	7,96	1,52	6,77	9,71	1.249
I	ABTL + CP, D2/9	-0,562	-1,284	6,26	8,58	1,68	6,11	8,32	670

[0564] **Conclusão:** Considerando esses resultados obtidos, pode-se concluir que nas condições experimentais testadas:

[0565] - A administração repetida do item de teste oral ABTL0812, isoladamente e em combinação com uma dose intraperitoneal semanal de Paclitaxel e Carboplatina não causou mortalidade e foi bem tolerada, pois não foram observados sinais clínicos locais ou sistêmicos indicativos de

toxicidade em nenhum dos animais ao longo do curso do estudo.

[0566] - A maioria dos animais manteve o peso corporal durante todo o período do estudo. Apenas uma diminuição estatisticamente significativa foi observada nos animais tratados com a combinação do item de teste e dos dois itens de referência (no mesmo primeiro dia de cada período).

[0567] - O consumo de alimentos em animais do grupo A pareceu ser maior do que quase todos os animais no período do estudo.

[0568] - A patologia clínica (parâmetros bioquímicos e hematológicos) revelou diferenças estatisticamente significativas nos grupos tratados quando comparados ao grupo de controle. Apesar da maioria dos valores estar dentro da faixa normal para animais dessa cepa e sexo, não foi possível excluir um efeito do tratamento. O efeito na contagem de plaquetas é devido à carboplatina, mas uma leve diminuição adicional na contagem de plaquetas não pode ser descartada quando os três fármacos experimentais são combinados.

[0569] - Não foram observados efeitos relevantes dos tratamentos nos achados brutais da necropsia e no peso absoluto/relativo dos órgãos.

EXEMPLO 4: *ABTL0812 em combinação com diferentes agentes quimioterápicos - dados humanos*

4.1: *Um estudo de fase aberta I/II para avaliar a eficácia e segurança de ABTL0812 em combinação com paclitaxel e carboplatina em pacientes com câncer endometrial avançado ou NSCLC escamoso.*

[0570] Um ensaio clínico de fase I/II está sendo realizado em pacientes com câncer endometrial avançado ou carcinoma escamoso de células não pequenas do pulmão. Esse é um estudo aberto e multicêntrico, no qual o ABTL0812 é administrado por via oral, a partir de 1.300 mg, três vezes ao dia em combinação com quimioterapia.

A. Objetivos do ensaio

- Ponto final primário da fase I: avaliar a segurança e a tolerabilidade do ABTL0812 mais paclitaxel + carboplatina em pacientes com câncer endometrial avançado ou metastático ou NSCLC escamoso na terapia de primeira linha

- Desfecho primário da fase II: avaliar a eficácia do ABTL0812 mais paclitaxel + carboplatina em pacientes com câncer endometrial avançado ou metastático ou NSCLC escamoso na terapia de primeira linha

B. Projeto do estudo

[0571] Esse estudo não é randomizado e todos os pacientes incluídos estão recebendo ABTL0812 além de paclitaxel + carboplatina. Essa fase é dividida em 2 períodos:

- Período 1: ABTL0812 é administrado em combinação com quimioterapia.

- Período 2: Após a finalização dos ciclos do SOC, o ABTL0812 é tomado como terapia única, por até 12 meses a partir do período inicial 1.

[0572] Conclusão:

[0573] Os resultados preliminares já obtidos do teste crítico em humanos são positivos - no sentido de que esses resultados indicam que também em humanos há um efeito sinérgico em relação ao uso do composto ABTL0812 em combinação com paclitaxel e carboplatina em pacientes com câncer endometrial avançado ou câncer de células escamosas.

REFERÊNCIAS

1: EP2409963B1 (Lipopharma – depositado em 2010)

2: Erazo et al.; Clinical Cancer Research; 22(10) 15 de maio de 2016

3: Notícias datadas de 22 de novembro de 2016 - publicadas na página do presente requerente (AbilityPharma)

4: Notícias datadas 14 de dezembro de 2016 - publicadas na página do presente requerente (AbilityPharma)

REIVINDICAÇÕES

1. Combinação farmacêutica caracterizada pelo fato de que compreende:

(A): um composto que é um ácido graxo poli-insaturado de fórmula $\text{COOH-CHOH-(CH}_2\text{)}_6\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812), um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma combinação dos mesmos

e

(B): um composto de agente quimioterápico, em que o Composto (B) é pelo menos um composto de agente quimioterápico selecionado do grupo que consiste em:

Ciclofosfamida;
Melfalano;
Docetaxel;
Paclitaxel;
Nab-paclitaxel;
Carboplatina;
Cisplatina;
Oxaliplatina;
Metotrexato
Pemetrexede;
Azatioprina;
Capecitabina;
Fluouracila;
Mercaptopurina;
Gencitabina;
Bleomicina;
Actinomicina;
Vincristina;
Vinblastina;
Vinorelbina;

Ácido retinoico;
Temozolomida;
Daunorrubicina
Doxorrubicina;
Irinotecano; e
Topotecano

para o uso simultâneo, separado ou sequencial no tratamento de um câncer em um paciente humano.

2. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que o Composto (B) é pelo menos um composto de agente quimioterápico selecionado do grupo que consiste em:

Docetaxel;
Paclitaxel;
Nab-paclitaxel;
Carboplatina;
Cisplatina;
Oxaliplatina;
Metotrexato
Pemetrexede;
Gencitabina;
Bleomicina
Ácido retinoico;
Temozolomida;
Doxorrubicina;
Irinotecano; e
Topotecano.

3. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que o Composto (A) é um sal de sódio de $\text{COOH-CHOH-(CH}_2\text{)}_6\text{- (CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ (ABTL0812).

4. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que o câncer é pelo menos um câncer selecionado do grupo que consiste em:

- Câncer de pulmão;
- Câncer de pulmão de células não pequenas;
- Câncer de pulmão de pequenas células;
- Câncer de células escamosas;
- Adenocarcinoma;
- Câncer do endométrio;
- Câncer de pâncreas;
- Glioblastoma;
- Câncer de mama;
- Câncer de cabeça e pescoço;
- Neuroblastoma; e
- Colangiocarcinoma.

5. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que o câncer é pelo menos um câncer selecionado do grupo que consiste em:

- Câncer de pulmão de células não pequenas;
- Câncer de células escamosas;
- Câncer do endométrio;
- Câncer de pâncreas;
- Glioblastoma;
- Câncer de mama;
- Neuroblastoma; e
- Colangiocarcinoma.

6. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que

- O Composto (B) é docetaxel e o câncer é câncer de pulmão, preferencialmente adenocarcinoma de pulmão de células não

pequenas;

- O Composto (B) é paclitaxel e o câncer é câncer de pulmão, preferencialmente adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;

- O Composto (B) é gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;

- O Composto (B) é carboplatina e o câncer é endometrial;

- O Composto (B) é ácido retinoico e o câncer é neuroblastoma;

- O Composto (B) é paclitaxel e o câncer é câncer de mama, preferencialmente câncer de mama triplo negativo;

- O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer de células escamosas, preferencialmente câncer de pulmão escamoso de células não pequenas;

- O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é adenocarcinoma do pulmão de células não pequenas;

- O Composto (B) é pemetrexede e cisplatina e o câncer é adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;

- O Composto (B) é paclitaxel e o câncer é câncer endometrial;

- O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer endometrial;

- O Composto (B) é paclitaxel e gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;

- O Composto (B) é gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;

- O Composto (B) é gencitabina e Nab-paclitaxel e o câncer é câncer de pâncreas;

- O Composto (B) é cisplatina e gencitabina e o câncer é neuroblastoma;

- O Composto (B) é ácido da doxorubicina e o câncer é câncer de mama, preferencialmente câncer de mama triplo negativo;
- O Composto (B) é cisplatina e gencitabina e o câncer é colangiocarcinoma;
- O Composto (B) é gencitabina e o câncer é colangiocarcinoma;
- O Composto (B) é topotecano e o câncer é neuroblastoma;
- O Composto (B) é irinotecano e o câncer é neuroblastoma; ou
- O Composto (B) é temozolomida e o câncer é neuroblastoma.

7. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que

- O Composto (B) é docetaxel e o câncer é câncer de pulmão, preferencialmente adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;
- O Composto (B) é gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;
- O Composto (B) é carboplatina e o câncer é endometrial;
- O Composto (B) é ácido retinoico e o câncer é neuroblastoma;
- O Composto (B) é paclitaxel e o câncer é câncer de mama, preferencialmente câncer de mama triplo negativo;
- O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer de células escamosas, preferencialmente câncer de pulmão escamoso de células não pequenas;
- O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas;
- O Composto (B) é pemetrexede e cisplatina e o câncer é

adenocarcinoma do pulmão de células não pequenas;

- O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer endometrial;

- O Composto (B) é paclitaxel e gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;

- O Composto (B) é gencitabina e o câncer é câncer de pâncreas;

- O Composto (B) é gencitabina e Nab-paclitaxel e o câncer é câncer de pâncreas;

- O Composto (B) é ácido da doxorubicina e o câncer é câncer de mama, preferencialmente câncer de mama triplo negativo;

- O Composto (B) é cisplatina e gencitabina e o câncer é colangiocarcinoma; ou

- O Composto (B) é gencitabina e o câncer é colangiocarcinoma.

8. Combinação farmacêutica, de qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que

- O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é câncer endometrial avançado, preferencialmente câncer endometrial avançado; ou

- O Composto (B) é paclitaxel e carboplatina e o câncer é o câncer de células escamosas.

9. Combinação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que o Composto (A) é administrado por via oral.

10. Combinação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que a dose administrada do Composto (A) é uma dose de 1.200 mg a 1.400 mg.

11. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que a combinação

farmacêutica é uma composição única compreendendo o Composto (A) e o Composto (B).

12. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que o Composto (A) é administrado por via oral.

13. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que a dose administrada do Composto (A) é uma dose total de 200 mg a 2.000 mg por dia.

14. Combinação farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo fato de que

- O Composto (B) é Docetaxel e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

- O Composto (B) é o Paclitaxel e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

- O Composto (B) é Carboplatina e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

- O Composto (B) é Cisplatina e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

- O Composto (B) é a Gencitabina e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

- O Composto (B) é Nab-Paclitaxel e é administrado por via intravenosa via suspensão de infusão;

- O Composto (B) é Temozolomida e é administrado por via oral;

- O Composto (B) é o Irinotecano e é administrado por via intravenosa por solução de infusão;

- O Composto (B) é Doxorubicina e é administrado por via intravenosa; ou

- O Composto (B) é Topotecano e é administrado por via intravenosa por solução de infusão.

Figura 1

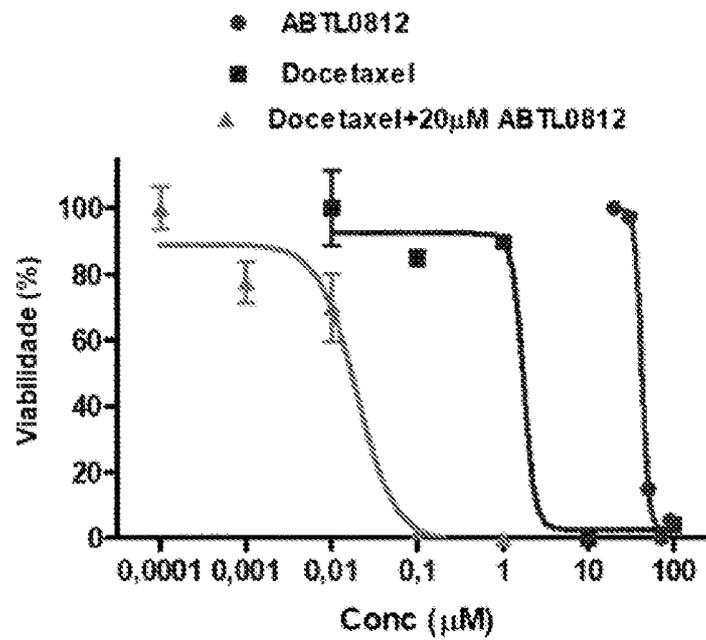
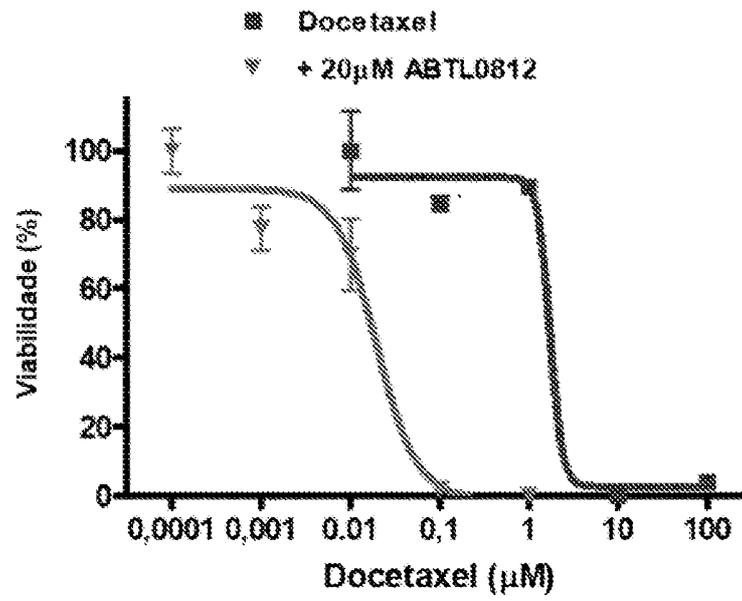


Figura 2

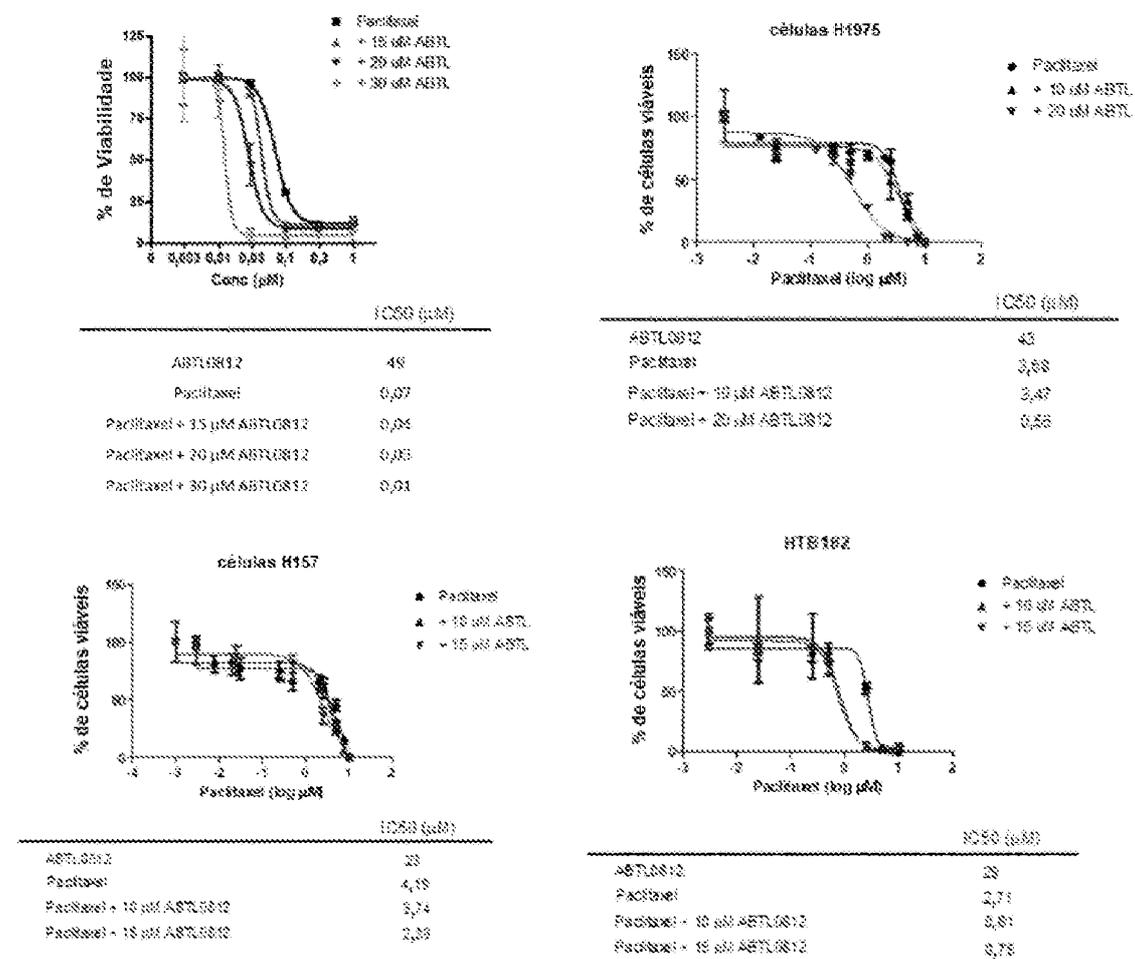


Figura 3

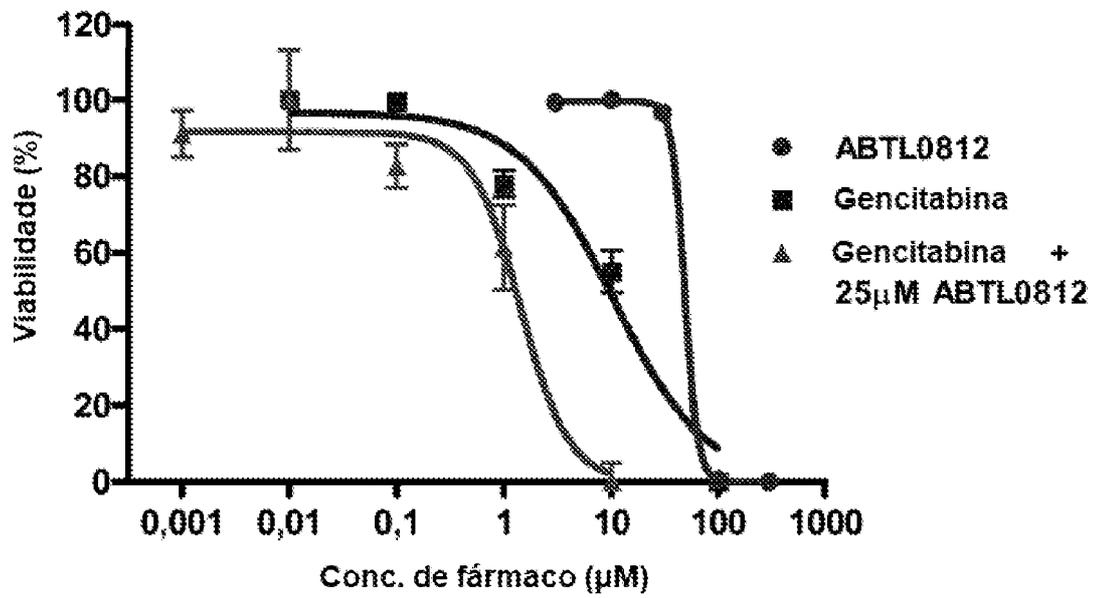
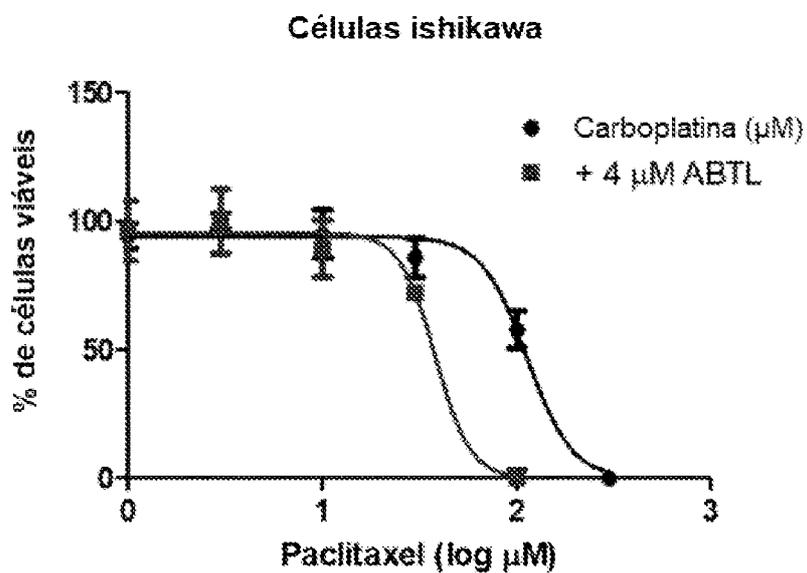


Figura 4



	IC50 (μM)
ABTL0812	33,0
Carboplatina	112,6
Carboplatina + 4 μM ABTL0812	38,0

Figura 5

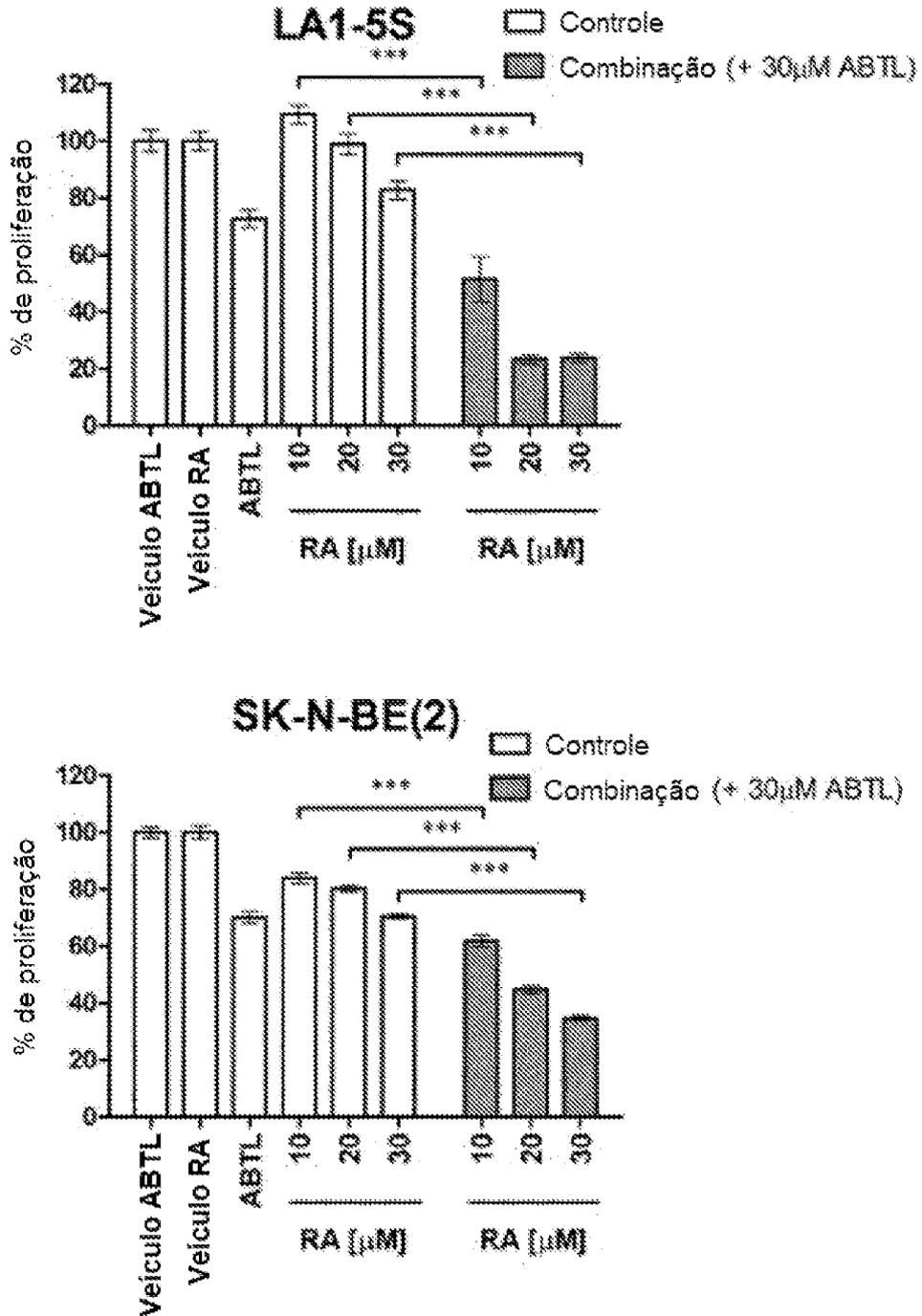


Figura 6

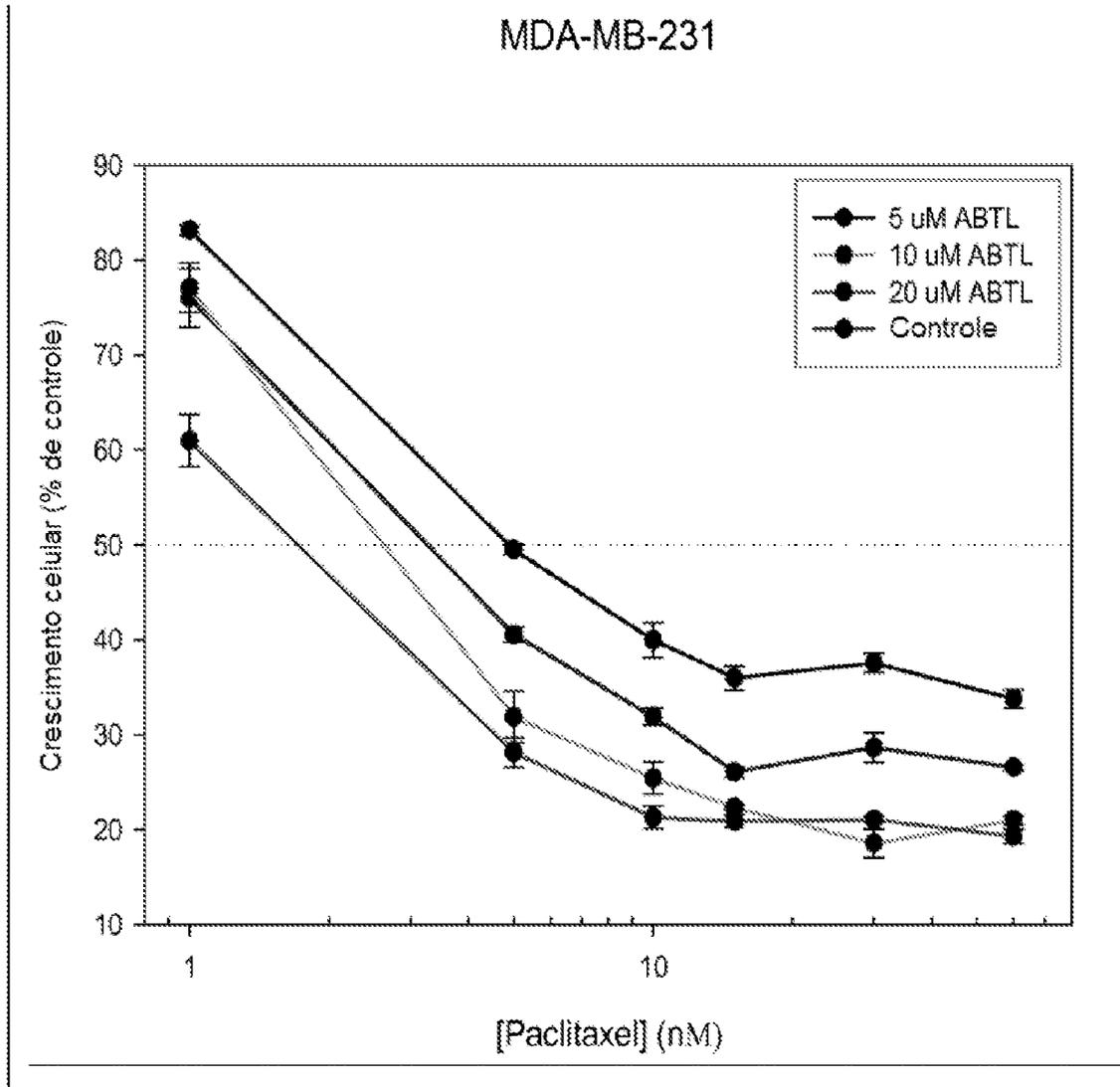


Figura 7

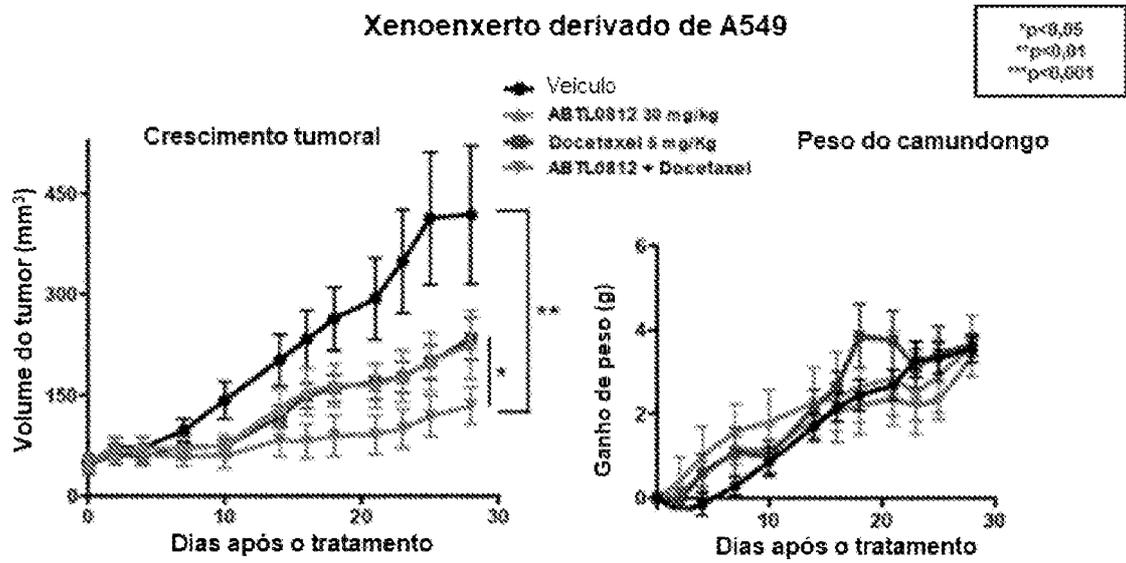


Figura 8

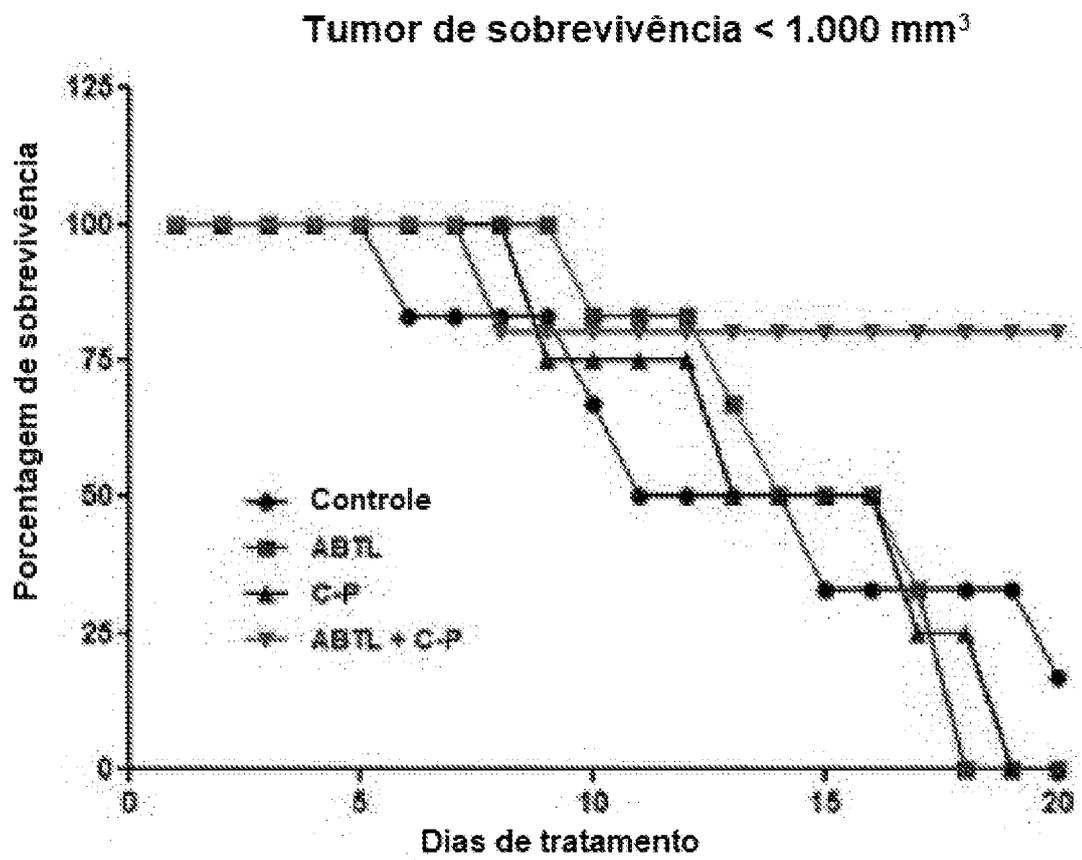


Figura 9

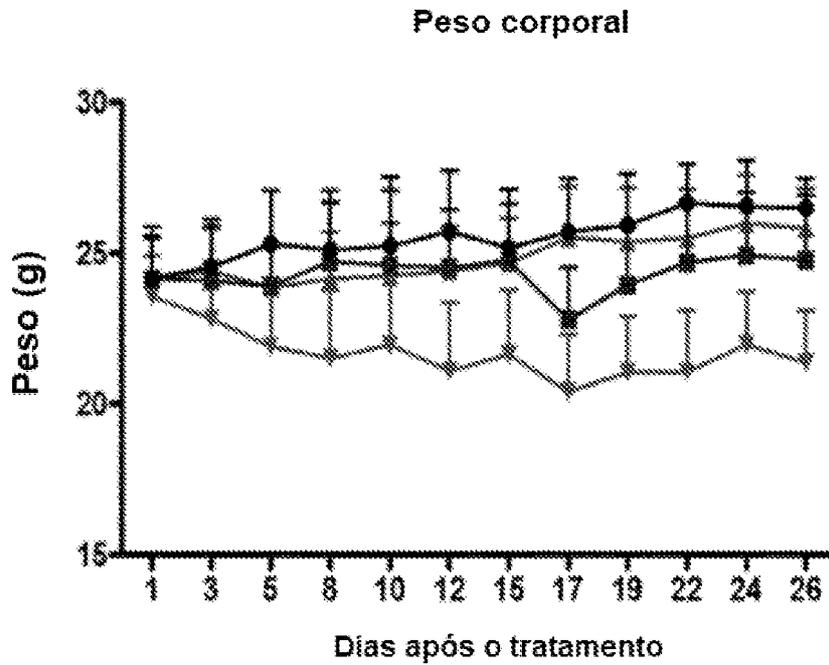
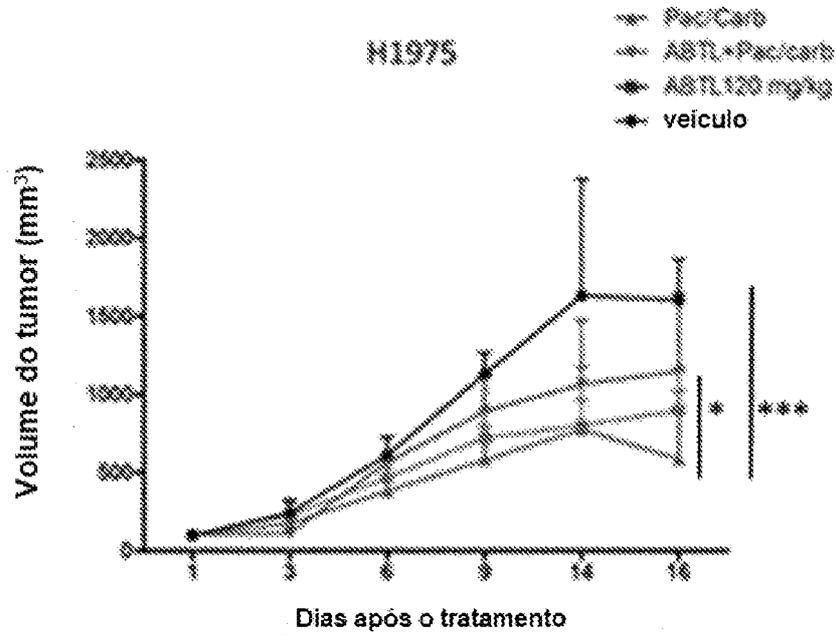


Figura 10

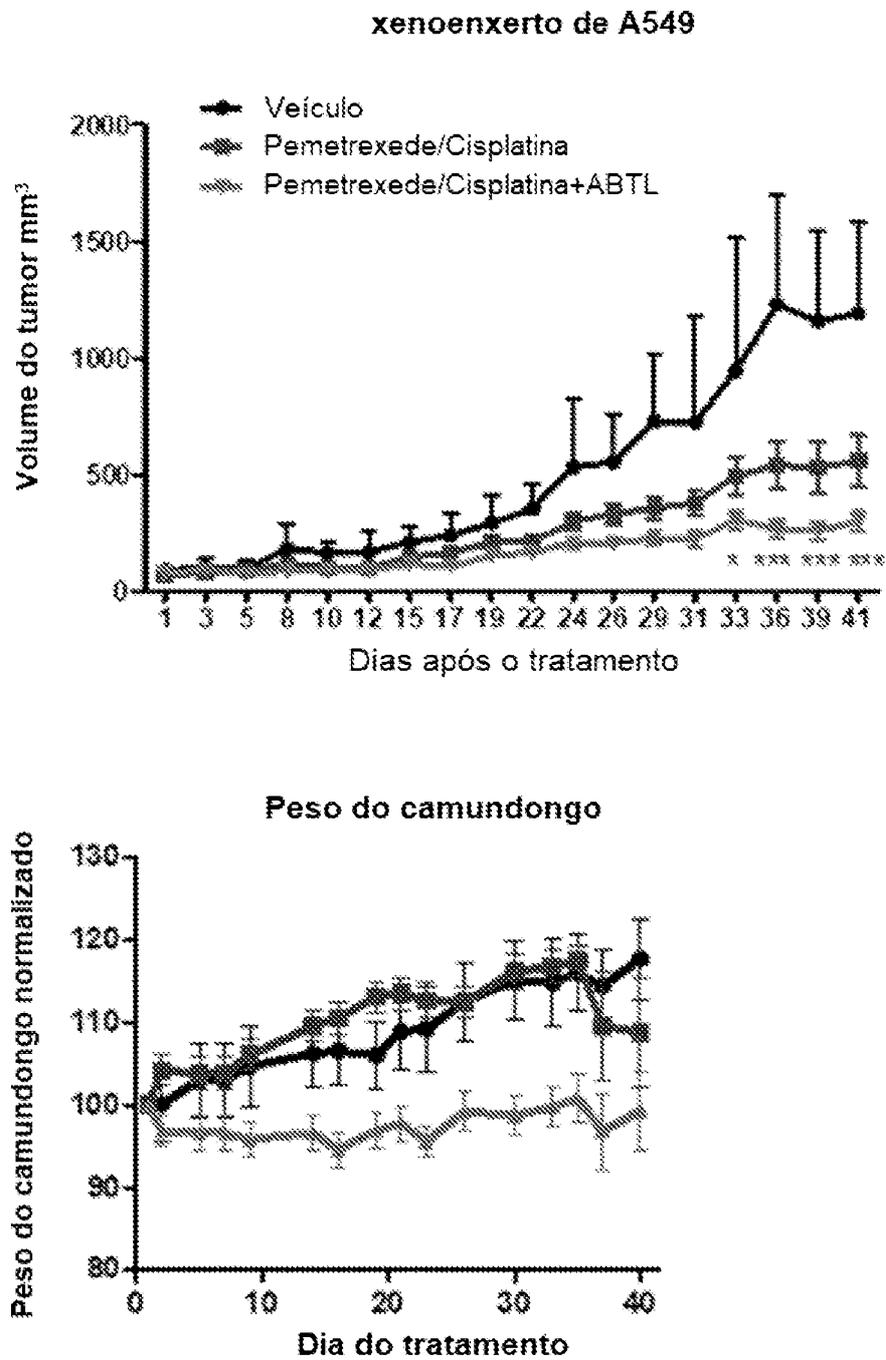


Figura 11

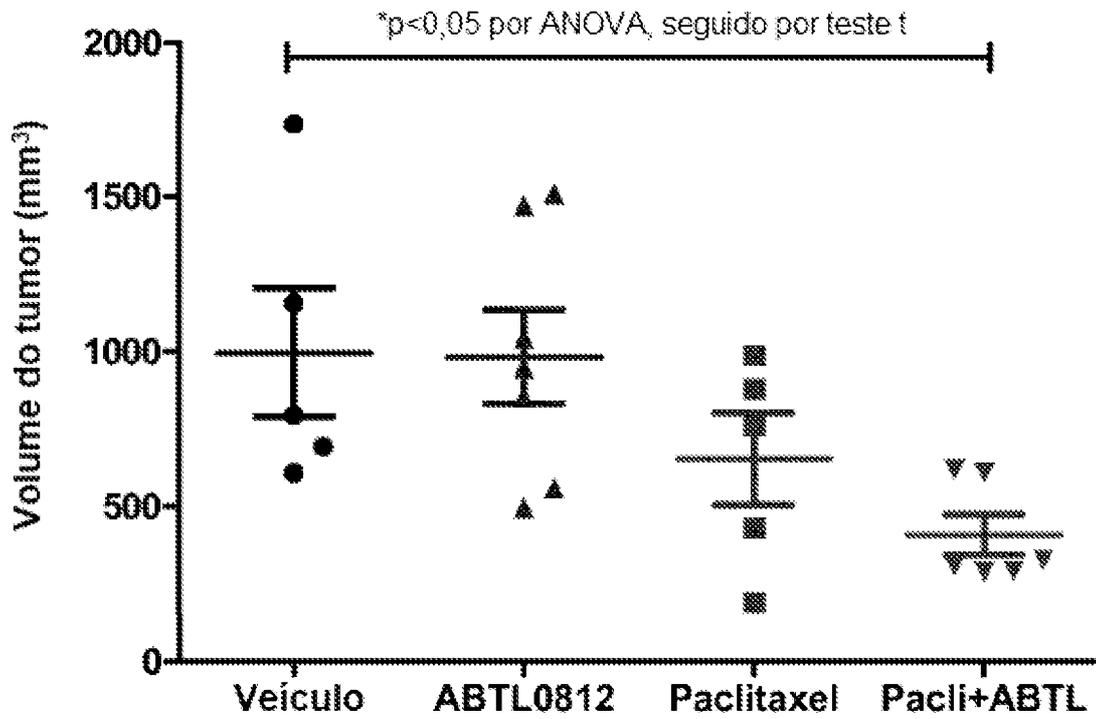


Figura 12

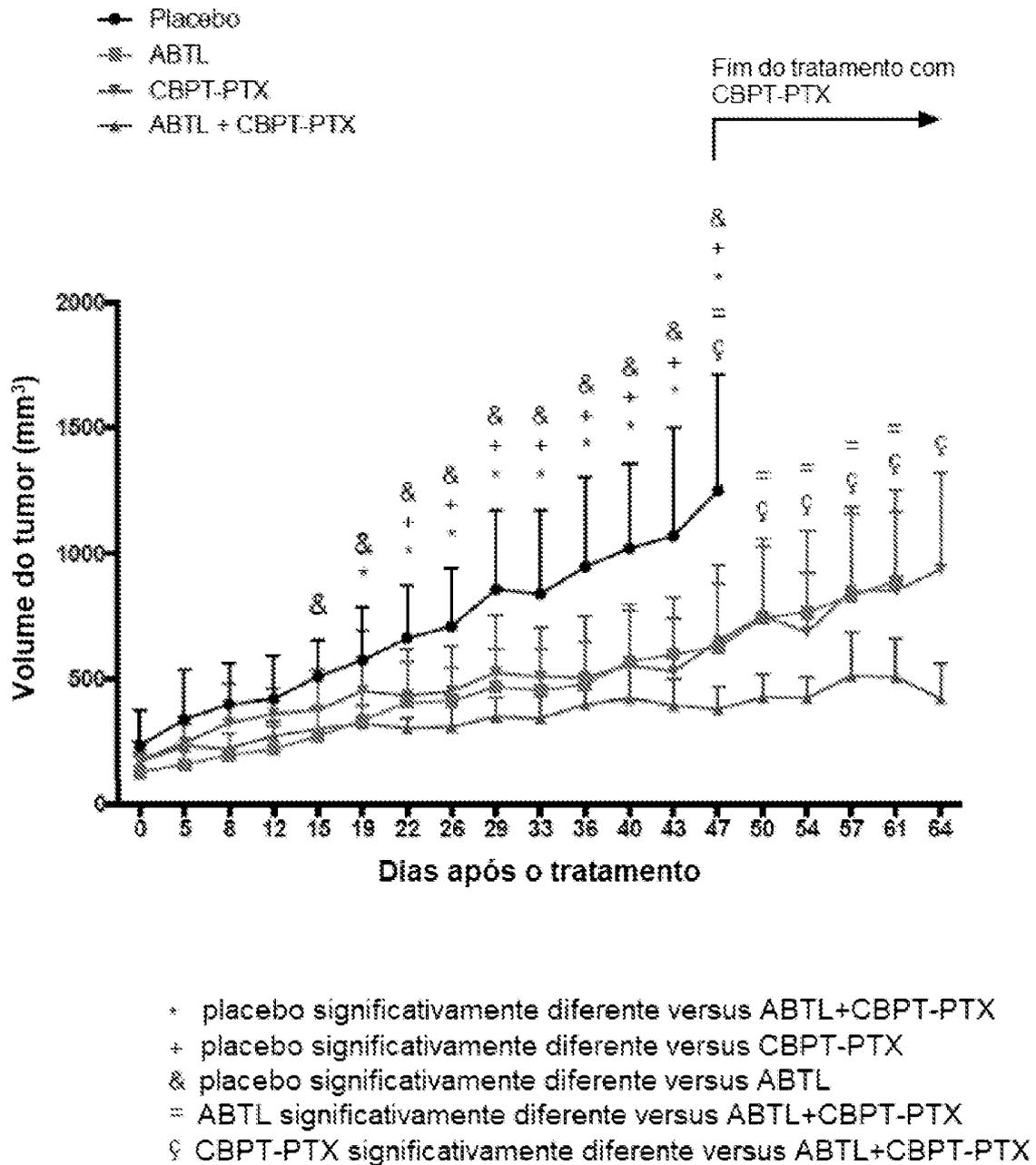


Figura 13

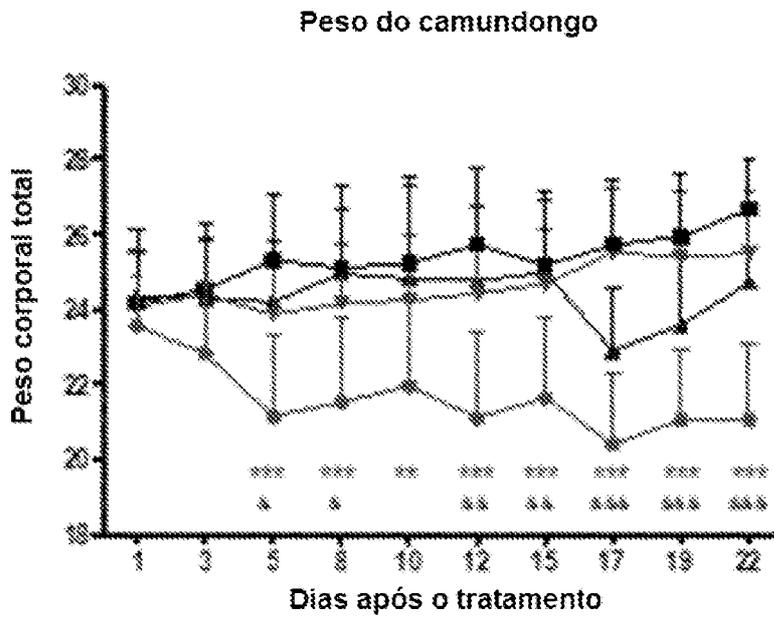
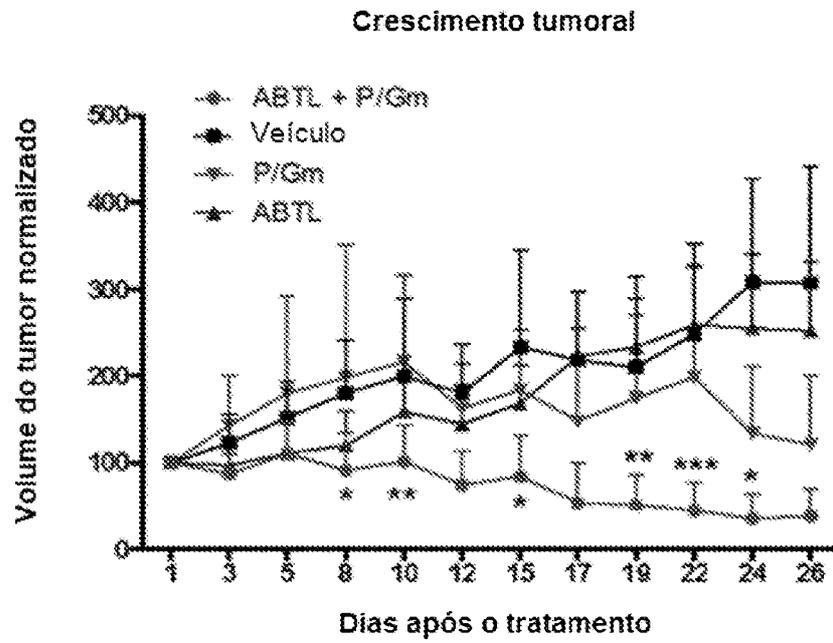


Figura 14

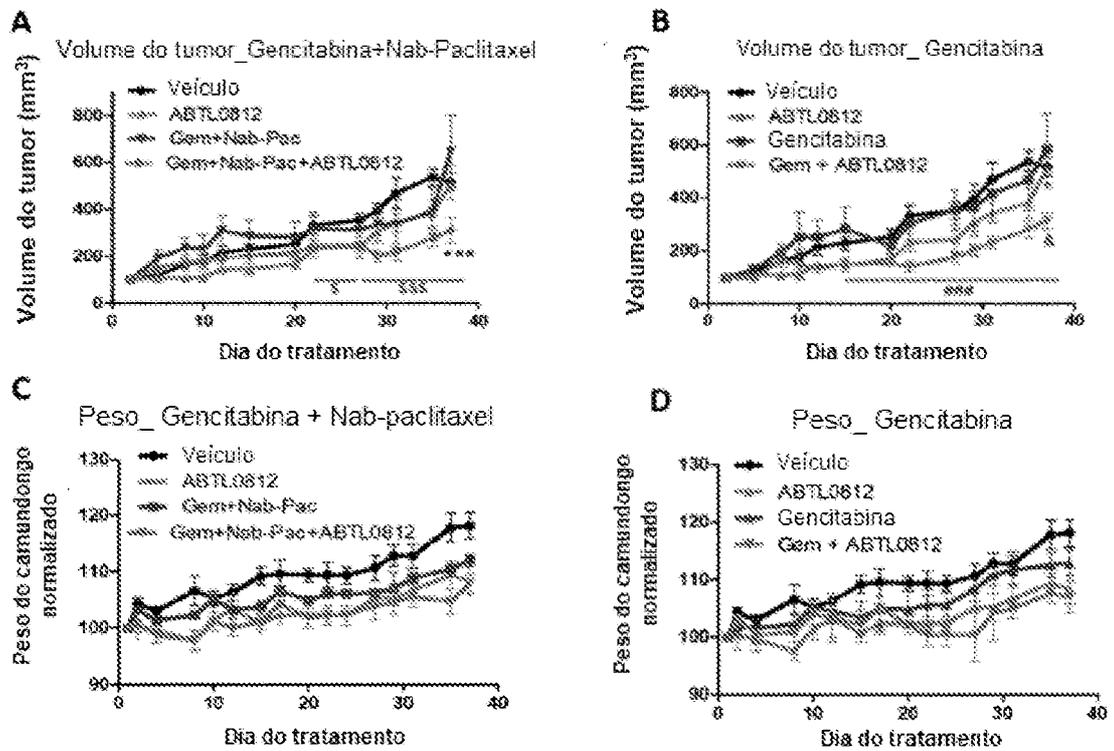
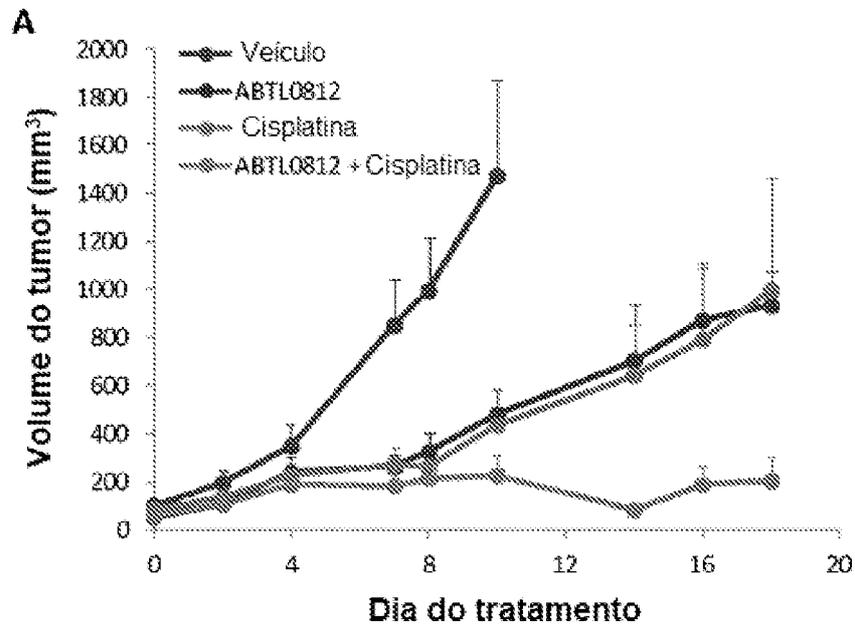


Figura 15



B

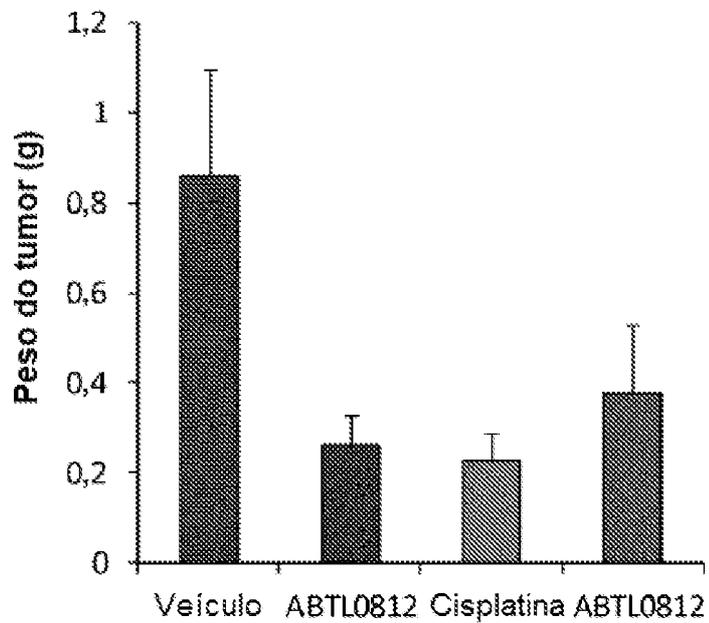


Figura 16

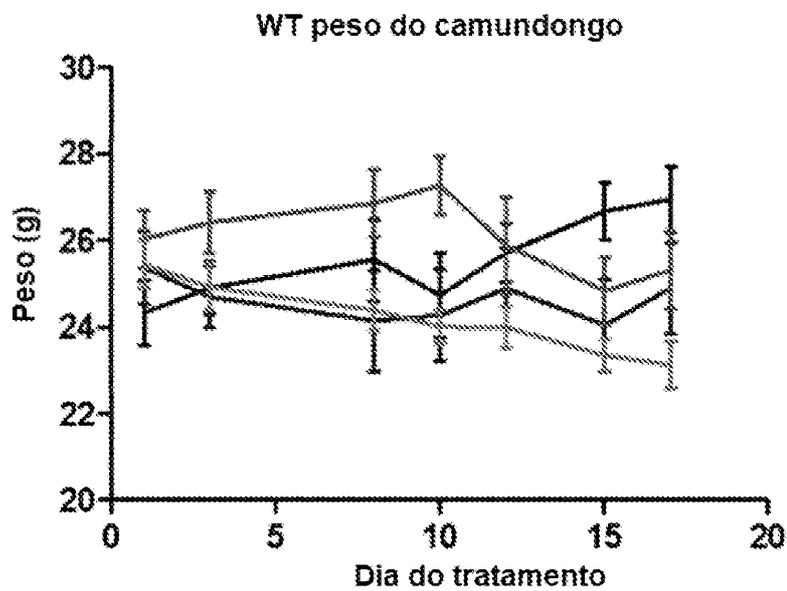
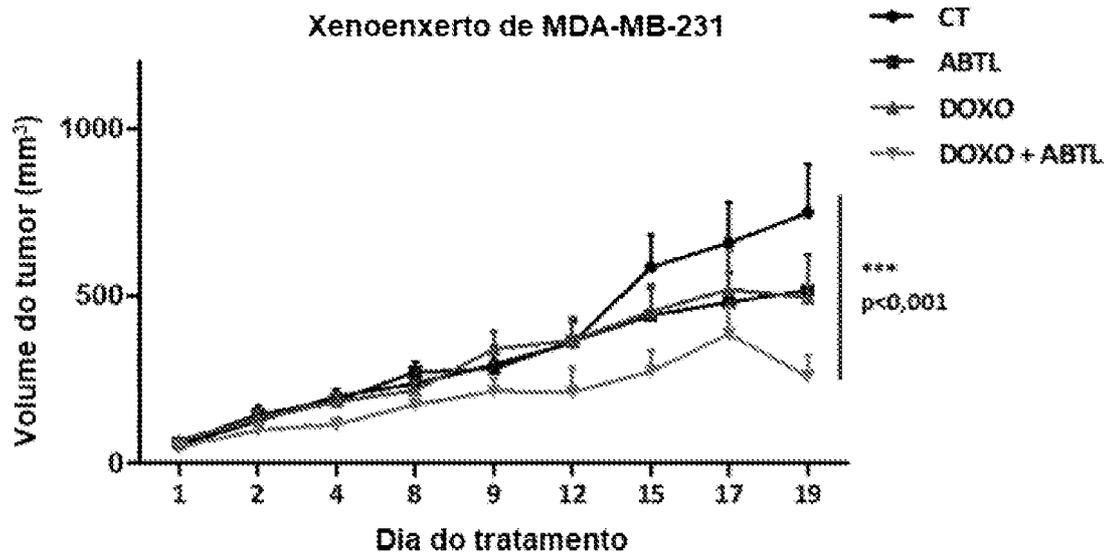
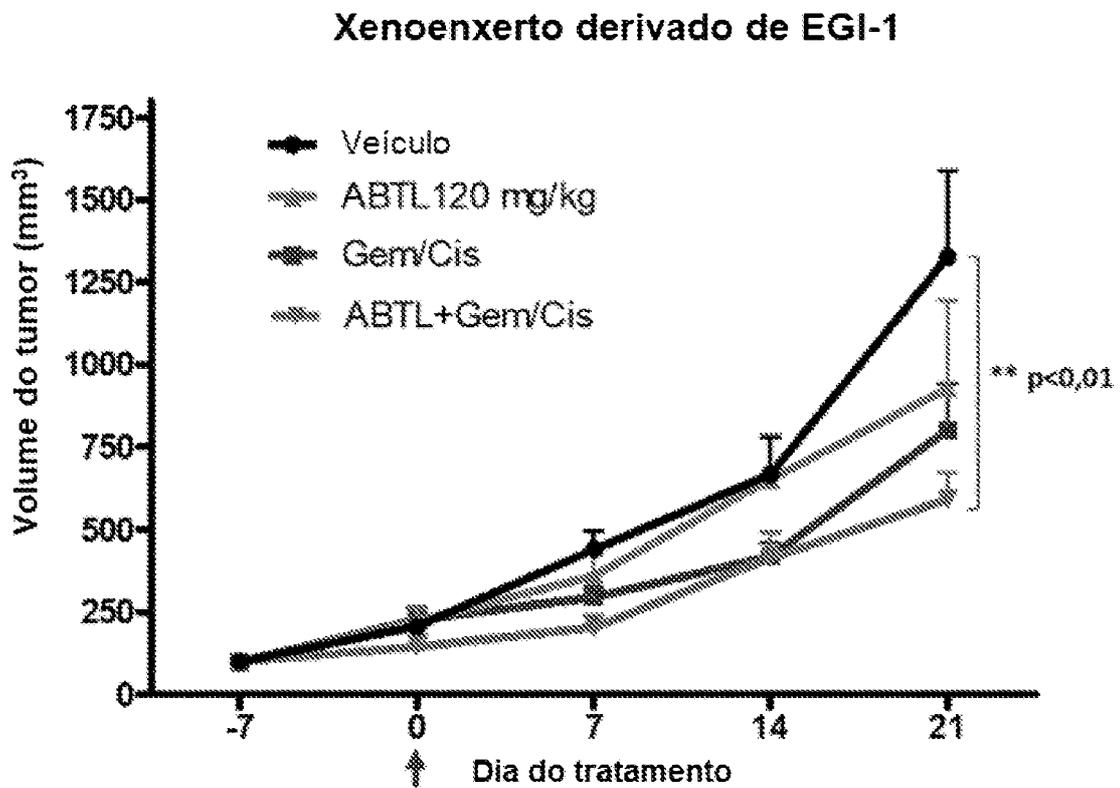


Figura 17



RESUMO

“COMBINAÇÃO FARMACÊUTICA PARA O TRATAMENTO DE UM CÂNCER”

Trata-se de uma combinação farmacêutica compreendendo (A): um ácido graxo poli-insaturado e (B): um composto quimioterápico para o uso simultâneo, separado ou sequencial no tratamento de um câncer em um paciente humano.