

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 102**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/095** (2006.01)  
**A61K 31/198** (2006.01)  
**A61P 17/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04810055 .6**  
96 Fecha de presentación: **27.10.2004**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1677775**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.07.2006**

54 Título: **USO TERAPÉUTICO DE METIONINA PARA EL TRATAMIENTO O LA PREVENCIÓN DE MUCOSITIS.**

30 Prioridad:  
**27.10.2003 US 694436**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**09.03.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**09.03.2012**

73 Titular/es:  
**THE BOARD OF TRUSTEES OF SOUTHERN  
ILLINOIS UNIVERSITY  
SOUTHERN ILLINOIS UNIVERSITY, P.O. BOX  
19230  
SPRINGFIELD, IL 62794-9230, US**

72 Inventor/es:  
**CAMPBELL, Kathleen C. M.**

74 Agente/Representante:  
**de Justo Bailey, Mario**

ES 2 376 102 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Uso terapéutico de metionina para el tratamiento o la prevención de mucositis

5 **Antecedentes de la invención**

La presente invención se refiere al uso de agentes protectores en la quimioterapia contra el cáncer en sujetos humanos y animales. Los agentes protectores son compuestos que previenen, reducen o mejoran de otro modo los efectos secundarios tóxicos asociados con los regímenes de quimioterapia contra el cáncer en células corporales normales mientras que conservan sustancialmente las propiedades antitumorales de tales terapias *in vivo* cuando se administran antes de, de forma concomitante con, o después del comienzo de tal régimen quimioterápico. Más específicamente, la presente invención se refiere al uso de D-metionina y compuestos relacionados estructuralmente según las reivindicaciones como agentes protectores que tienen un efecto protector frente al daño en la piel y efectos protectores frente a la mucositis junto con quimioterapia que emplea agentes antineoplásicos que contienen platino, tales como cisplatino. La presente invención también se refiere al uso de D-metionina y compuestos relacionados estructuralmente según las reivindicaciones como agentes protectores que tienen efectos protectores frente a la pérdida de audición inducida por radiación, así como efectos protectores en la mejora de otros efectos secundarios inducidos por radiación tales como mucositis y daño en la piel.

20 1. Quimioterapia con cisplatino

El cisplatino (cis-diaminodicloroplatino(II); CDDP) es un agente antineoplásico ampliamente usado. La administración de cisplatino ha aumentado tanto en la variedad de tipos de cáncer para los que se emplea como en la cantidad usada en un individuo dado para lograr un efecto terapéutico máximo. Véanse, Blumenreich *et al.*, *Cancer*, vol. 55, págs. 1118-22 (1985); Forastiere *et al.*, *Cancer Chemo. Pharm.*, vol. 19, págs. 155-8 (1987); Gandara *et al.*, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* (1989), vol. 30, pág. 241. (1989); Gandara *et al.*, *Anticancer Res.*, vol. 9, págs. 1121-8 (1989).

Durante mucho tiempo se han reconocido los efectos secundarios tóxicos de cisplatino y se notifican ampliamente. Véanse, Lippman *et al.*, "Clinical Trials of Cis-Diamminedichloroplatinum (NSC-119875)", *Cancer Chemother. Rep.*, Parte 1, vol. 57, págs. 191-200 (1973); y Hacker, *The Toxicity of Anticancer Drugs*, págs. 82-105, (Pergamon Press, 1991). Estas toxicidades incluyen una variedad de neuropatías periféricas, mielosupresión, toxicidad gastrointestinal, nefrotoxicidad y ototoxicidad. Véanse, Ozols y Young, *Semin. Oncol.*, 12(4), Supl. 6, págs. 21-30 (1985); Stewart *et al.*, *Am. J. Clin. Oncol.*, 10(6), págs. 517-19 (1987); Stoter *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 7(8), págs. 1099-1104 (1989). Inicialmente, el principal factor limitante de la dosis fue la nefrotoxicidad, pero en la actualidad la administración rutinaria de manitol, solución salina hipertónica y la alta administración de líquido han mejorado, pero no eliminado, ese efecto secundario. Sin embargo, la ototoxicidad permanece sin control. Véanse, Bajorin *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 5(10), págs. 1589-93 (1987); Fillastre *et al.*, *Toxicol. Lett.*, 46, págs. 163-75 (1989). Aunque la nefrotoxicidad todavía puede ser limitante de la dosis, actualmente el principal factor limitante de la dosis es la ototoxicidad. Véanse, Blumenreich *et al.*, *Cancer*, 55, págs. 1118-22 (1985); Forastiere *et al.*, *Cancer Chemo. Pharm.*, 19, págs. 155-8 (1987); Berry *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 8(9), págs. 1585-90 (1990).

Los principales efectos de ototoxicidad de cisplatino parecen producirse en la cóclea. Se producen cambios anatómicos tanto en la estría vascular como en el órgano de Corti. Los principales hallazgos histológicos incluyen degeneración de células ciliadas y daño a las células de soporte que están relacionados con la dosis. Véase, Anniko y Sobin, *Am. J. Otol.*, 7, págs. 276-93 (1986). A altas dosis, puede producirse un colapso total del laberinto membranoso. Véase *id.* En el órgano de Corti, existe pérdida de células ciliadas externas e internas, con una propensión a la pérdida de células ciliadas externas en la espira basal, y alteraciones en las células de soporte y la membrana de Reissner. Véanse, Fleischman *et al.*, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 33, págs. 320-32 (1975); Komune, "Potentiating Effects of Cisplatin and Ethacrynic Acid in Ototoxicity," *Arch. Otolaryngol.* 101, págs. 66-74 (1981); Estrem *et al.*, *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 89, págs. 638-745 (1981); y Schweitzer, *Laryngoscope*, 103, págs. 1-52 (1993). Estrem *et al.*, también notificaron ablandamiento de la placa cuticular y un aumento del número de cuerpos lisosómicos en la parte apical de la célula ciliada externa. Sin embargo, se desconocen en gran medida los mecanismos que inducen estos cambios.

Para concentraciones equivalentes en el oído interno, el cisplatino es el fármaco más ototóxico conocido. Véanse, Moroso *et al.*, *J. Otolaryngol.*, 12(6), págs. 365-9 (1983); Koegel, *Am. J. Otol.*, 6(2), págs. 190-9 (1985); Anniko y Sobin, *Am. J. Otol.*, vol. 7, págs. 276-93 (1986); y Griffin, *Brit. J. Audio.*, 22, págs. 195-210 (1988). Generalmente, la ototoxicidad del cisplatino es irreversible, su inicio gradual, y la pérdida de audición puede progresar tras la suspensión del protocolo. Véanse, Schaefer *et al.*, *Cancer*, 56(8), págs. 1934-39 (1985); Melamed *et al.*, *Cancer*, 55, págs. 41-43 (1985); Pollera *et al.*, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 21, págs. 61-4 (1988); Aguilar-Markulis *et al.*, *J. Surg. Oncol.*, 16, págs. 111-23 (1981); y Moroso *et al.*, *J. Otolaryngol.*, 12(6), págs. 365-9 (1983). La pérdida de audición es habitualmente permanente. Véase, Vermorken *et al.*, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 19(1), págs. 53-58 (1983). Puede producirse una recuperación parcial en algunos casos, pero sólo uno de 121 pacientes con pérdida de audición tuvo una recuperación completa en un estudio de Aguilar-Markulis *et al.*, citado anteriormente. La pérdida de audición se inicia normalmente en las frecuencias ultraaltas (de 9000 a 20000 Hz) y luego progresa en el

intervalo alto de audiometría convencional, lo que reduce la capacidad del paciente para oír sonidos consonánticos pero no vocálicos. Véanse, Fausti *et al.*, *Cancer*, 53, págs. 224-31 (1984); Kopelman *et al.*, *Laryngoscope*, 98, págs. 858-64 (1988); Laurell y Engström, *Hearing Research*, 38, 27-34 (1989); y Meyer, *J. Clin. Oncol.*, 7(6), 754-760 (1989). Una incapacidad para comprender el habla y acúfenos son dolencias frecuentes (Kopelman *et al.*, citado anteriormente). Un número creciente de pacientes sobreviven a la quimioterapia, pero frecuentemente con déficit auditivo.

## 2. Agentes protectores de azufre nucleófilos

- 10 Se ha notificado que muchos compuestos que contienen azufre (incluyendo sustancia con grupos tio, tiol y tioéter) proporcionan nefroprotección frente a CDDP en modelos con animales. Véanse, Anderson, *et al.*, *FASEB J.*, vol. 4, págs. 3251-5 (1990); Jones y Basinger, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1937-42 (1989); Jones *et al.*, *Cancer Chemo. Pharm.*, 17, págs. 38-42 (1986); Jones *et al.*, *Toxicology*, 68, págs. 227-47 (1991); Jones *et al.*, *Anticancer Res.*, 11, págs. 449-54 (1991); Jones *et al.*, *Anticancer Res.*, 11, págs. 1939-42 (1991); y Jones *et al.*, *Fundam. Appl. Toxicol.* 18, págs. 181-8 (1992). Estos compuestos pueden actuar impidiendo la reducción inducida por CDDP de glutatión o la unión a CDDP a grupos sulfhidrilo de proteína. Véanse, Hannemann *et al.*, *Toxicology*, 51, págs. 119-32 (1988); Nakano *et al.*, *Jp. J. Pharmacol.*, 50, págs. 87-92 (1989); Gandara *et al.*, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1121-8 (1989); Ravi *et al.*, *Pharmacologist*, 33(3), pág. 217 (1991); y Schweitzer, *Laryngoscope*, 103, págs. 1-52 (1993).
- 20 Adicionalmente, el tiosulfato de sodio (STS) y el ditiocarbamato de dietilo (DDTC) proporcionaron buena otoprotección frente a CDDP en animales. Véanse, Otto *et al.*, *Hearing Research*, 35, págs. 79-86 (1988); Church *et al.*, *Hearing Research* 86(1,2), págs. 195-203 (1995); y Rybak *et al.*, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 26, págs. 293-300 (1995). Desafortunadamente, STS puede reducir la acción tumoricida de CDDP y puede agravar la mortalidad y la pérdida de peso inducida por CDDP. Véanse, Pfeifle *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 3, págs. 237-44 (1985); Aamdal *et al.*, *Cancer Treat., Rev.* 14, págs. 389-95 (1987); y Otto *et al.*, citado anteriormente. DDTC no interfiere con la acción antitumoral, pero puede producir graves efectos secundarios. Véanse, Dedon *et al.*, "Diethylthiocarbamate (DDTC) Reversal of Cisplatin (DDP) Nephrotoxicity," *AACR Abstracts*, 1470, pág. 371 (1985); Borch *et al.*, *Organ Directed Toxicities of Anticancer Drugs*, 3ª ed., págs. 190-20 (Martinus Nijhoff Publishing, 1988); Rothenberg *et al.*, *J. Nat'l. Cancer Inst.*, 80, págs. 1488-92 (1988); Qazi *et al.*, *J. Nat'l. Cancer Inst.*, 80(18), págs. 1486-92 (1988); y Berry *et al.*, *Proceedings of ASCO*, (266) 8, 69 (1989).

## D-metionina

- 35 La D-metionina es un nucleófilo que contiene azufre que proporciona una nefroprotección frente a CDDP altamente eficaz en animales sin disminuir la acción antitumoral. Véase, Jones y Basinger, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1937-42 (1989). La D-metionina también era el nefroprotector frente a CDDP más eficaz que no interfería con la acción tumoricida de CDDP de casi 40 agentes que contienen azufre sometidos a prueba en una serie de estudios de Jones y colaboradores. Véanse, Jones *et al.*, *Cancer Chemo. Pharm.*, 17, págs. 38-42 (1986); Jones y Basinger, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1937-42 (1989); Jones *et al.*, *Toxicology*, 68, págs. 227-47 (1991); Jones *et al.*, *Anticancer Res.*, 11, págs. 449-54 (1991); Jones *et al.*, *Anticancer Res.*, 11, págs. 1939-42 (1991); y Jones *et al.*, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 18, págs. 181-8 (1992).

## Agentes protectores que contienen azufre y la modulación de la toxicidad inducida por cisplatino

- 45 Estudios indican que los agentes protectores que contienen azufre individuales sólo pueden ser eficaces en la reducción de tipos específicos de toxicidad, tal como nefrotoxicidad, mientras que siguen siendo ineficaces en el bloqueo de otras complicaciones relacionadas con platino tales como neuropatía periférica y ototoxicidad. Además, un agente que es eficaz como quimioprotector regional tras su utilización específica de sitio (intraperitoneal) de compuestos que contienen platino tales como CDDP no puede proporcionar una protección sistemática adecuada, o puede inhibir la actividad antitumoral. Véase, Schweitzer, *Laryngoscope*, 103, págs. 1-52 (1993).

- 55 No todos los compuestos que contienen azufre proporcionan protección frente a todas las toxicidades de CDDP, y no es posible predecir qué agentes protectores serán eficaces o ineficaces para este fin. Por ejemplo, la cefoxitina no proporciona nefroprotección. Véase, Jones *et al.*, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 18, págs. 181-8 (1992). El L-cisteinato de etilo y la N-(2-mercapto-propionil)glicina agravan la nefrotoxicidad de CDDP. Véase, Jones y Basinger, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1937-42 (1989). El ácido 2-(metiltio)nicotínico no proporciona nefroprotección en ratas. Véase, Jones *et al.*, *Anticancer Res.*, 11, págs. 449-54 (1991). La sal sódica de penicilina G no protege frente a la nefrotoxicidad o la pérdida de peso de CDDP. Véase, Jones *et al.*, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 18, págs. 181-8 (1992). De manera similar, tiamina-HCl no protege frente a la nefrotoxicidad o a pérdida de peso de cisplatino. Véase *íd.*

- 60 Además, los compuestos que contienen azufre protectores frente a un tipo de toxicidad de CDDP frecuentemente no protegen frente a otras toxicidades por CDDP, y no es posible predecir la eficacia antitóxica específica de tales compuestos. La cefalexina protege frente a la disfunción renal y la pérdida de peso inducidas por CDDP, pero curiosamente no previene la patología renal. Véase, Jones *et al.*, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 18, págs. 181-8 (1992). La cefoxitina proporciona cierta protección frente a la pérdida de peso inducida por CDDP, pero no protege frente a la nefrotoxicidad por CDDP. Véase *íd.* La sal sódica de penicilina G no protege frente a o bien la nefrotoxicidad o bien

la pérdida de peso inducidas por CDDP. Íd. El sulfatiazol proporciona protección frente a la nefrotoxicidad por CDDP, pero no a la pérdida de peso. Íd.

5 WR2721 proporciona excelente neuroprotección frente a CDDP, pero no mejora las náuseas ni los vómitos. Véanse, Moll *et al.*, *Cancer* 61, págs. 2192-5 (1988) y Glover *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 5, págs. 574-8 (1987). Tampoco WR2721 parece proporcionar otoprotección frente a CDDP. Glover *et al.*, hallaron pérdida de audición de leve a grave en 20 de 36 pacientes que recibieron WR2721 antes de CDDP aunque se obtuvo nefroprotección. Rubin *et al.*, *J. Laryngol. Otol.*, 109(8), págs. 744-47 (1995), notificaron una incidencia del 45% de cambio del umbral auditivo significativo en  
10 pacientes tratados previamente con WR2721 antes de la administración de CDDP. Desafortunadamente, ni los estudios de Glover *et al.*, ni los de Rubin *et al.*, emplearon un grupo control, y ambos notificaron una alta incidencia de ototoxicidad en pacientes que recibieron R2721. En hámsteres, Church *et al.*, *Hearing Research* 86(1,2), págs. 195-203 (1995), notificaron que no había protección de WR2721 frente a ototoxicidad o mortalidad.

15 Incluso cuando se encuentra que un agente que contiene azufre es protector, sus efectos secundarios pueden ser tan graves que se excluye su aplicabilidad clínica. Además, incluso entre agentes que proporcionan otoprotección frente a CDDP, la protección puede ser tan inconstante y/o los efectos secundarios tan grandes que no se usen clínicamente. Por ejemplo, DDTC proporciona protección frente a nefrotoxicidad y ototoxicidad inducidas por CDDP, pero la protección frente a la ototoxicidad puede ser sólo parcial y sus efectos secundarios son graves. Véanse, Qazi *et al.*, *J. Nat'l. Cancer Inst.*, 80(18), págs. 1486-92 (1988); Berry *et al.*, *Proceedings of ASCO*, (266) 8, 69 (1989);  
20 Gandara *et al.*, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* (959), vol. 30, pág. 241 (1989); Gandara *et al.*, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1121-8 (1989); Gandara *et al.*, *Sem. Oncol.*, 18(1), págs. 49-55 (1991); Church *et al.*, *Hearing Research* 86(1,2), págs. 195-203 (1995); Ravi *et al.*, *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 107(2), pág. 232 (1992); y Rothenberg *et al.*, *J. Nat'l. Cancer Inst.*, 80, págs. 1488-92 (1988). Si se reduce la dosificación de DDTC para mejorar sus efectos secundarios, puede no producirse una protección adecuada frente a los efectos secundarios de CDDP. Véase,  
25 Paredes *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 6, pág. 955 (1988). De manera similar, disulfiram (Antabuse), que puede usarse como precursor para su metabolito DDTC, puede provocar neuropatía sensitivomotora y confusión reversible que pueden ser limitantes de la dosis. Véanse, Argov *et al.*, *New. Engl. J. Med.*, 301(8), págs. 409-13 (1979); y Stewart *et al.*, *Am. J. Clin. Oncol.*, 10(6), págs. 517-19 (1987). En consecuencia, no es probable que se use ampliamente DDTC clínicamente como quimioprotector frente a CDDP. Por el contrario, tal como se describió anteriormente, D-  
30 metionina proporciona otoprotección completa sin efectos secundarios adversos aparentes.

Finalmente, muchos compuestos que contienen azufre inhiben la acción antitumoral de CDDP, y no es posible predecir qué agentes actuarán o no de esta manera. Por tanto, muchos agentes que proporcionan protección frente a CDDP no son útiles clínicamente. Por ejemplo, el captopril protege frente a la nefrotoxicidad de CDDP, pero  
35 reacciona inmediatamente con CDDP para formar un precipitado si se coadministran, excluyendo de ese modo la eficacia antitumoral. Véase, Jones *et al.*, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 18, págs. 181-8 (1992). La L-metioninamida proporciona una excelente nefroprotección frente a CDDP, pero afecta a la acción antitumoral de CDDP. Véase, Jones *et al.*, *Anticancer Res.*, 11, págs. 449-54 (1991). La metalotioneína, un compuesto que contiene azufre cuya síntesis se induce mediante la administración de subnitrito de bismuto, proporciona nefroprotección frente a CDDP,  
40 pero también inhibe la acción antitumoral de CDDP. Véanse, Naganuma *et al.*, *Cancer Res.*, 47, págs. 983-7 (1987); Boogaard *et al.*, *Biochem. Pharm.*, 41(3), págs. 369-75 (1991); Satoh *et al.*, *Cancer Res.*, 53, págs. 1829-32 (1993); y Endresen *et al.*, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 55(3), págs. 183-87 (1984). STS reduce la nefrotoxicidad y ototoxicidad de CDDP, aunque algunos autores notifican una otoprotección inadecuada. Véanse, Pfeifle *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 3, págs. 237-44 (1985); Howell *et al.*, *Ann. Int. Med.* 97(6), págs. 845-51 (1982); Otto *et al.*, *Hearing Research*, 35,  
45 págs. 79-86 (1988); Church *et al.*, *Hearing Research* 86(1,2), págs. 195-203 (1995); y Markman *et al.*, *Cancer*, 56, págs. 2364-8 (1985). Sin embargo, STS probablemente no será útil clínicamente ya que la coadministración con CDDP reduce la acción tumoricida de este último, y la administración por dos vías no proporciona nefroprotección. Véanse, Pfeifle *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 3, págs. 237-44 (1985); Aamdal *et al.*, *Cancer Treat., Rev.* 14, págs. 389-95 (1987); y Jones *et al.*, *Anticancer Res.*, 11, págs. 449-54 (1991). Incluso en ausencia de otros agentes, STS también  
50 puede aumentar la mortalidad e inducir pérdida de peso. Véase, Otto *et al.*, *Hearing Research*, 35, págs. 79-86 (1988). La biotina, otro compuesto que contiene azufre que proporciona buena nefroprotección frente a CDDP, inhibe la actividad antitumoral. Véanse, Jones *et al.*, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 18, págs. 181-8 (1992).

Por tanto, una variedad de compuestos que contiene azufre puede actuar como agentes protectores para toxicidades particulares. Una comparación de compuestos que contienen C-SH- y C-S-C demostró que el grupo C-S-C- era más eficaz en la prevención de la nefrotoxicidad en ratas. Véase, Jones y Basinger, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1937-42 (1989). Sin embargo, no se encontró que todos los compuestos que tienen el grupo C-S-C- fuesen antagonistas eficaces de cisplatino.

60 La discusión anterior demuestra que no es posible predecir de manera fiable qué nucleófilo que contiene azufre particular presentará un efecto protector de compuesto de contiene platino en cualquier tipo particular de célula, tejido u órgano. En efecto, parece que los compuestos individuales ejercen sus efectos protectores sólo en determinados tejidos. Por tanto, la capacidad de cualquier compuesto de azufre nucleófilo particular para actuar como agente protector en cualquier tejido particular sólo puede determinarse mediante experimentación directa.  
65 Naturalmente, tal compuesto sólo será valioso si no reduce sustancialmente la eficacia antitumoral del cisplatino o compuestos que contienen platino antitumorales relacionados.

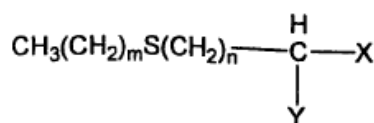
Deegan *et al.*, Toxicology, 89, págs. 1-14 (1994), demostraron que ratas Wistar macho que recibían una dosis única intraperitoneal de cisplatino-metionina a una razón en peso 1:5 no presentaron nefrotoxicidad inducida por cisplatino. Estos resultados indicaron que cisplatino-metionina es significativamente citotóxico, aunque carece de toxicidad renal asociada a cisplatino. Estos investigadores sugirieron un papel para o bien el tratamiento conjunto con metionina o bien compuestos de cisplatino-metionina en el tratamiento de cánceres humanos. Sin embargo, no dieron a conocer ni sugirieron los efectos específicos otoprotectores, protectores frente a la pérdida de peso, protectores gastrointestinales, neuroprotectores, protectores frente a la alopecia o de potenciación de la supervivencia de D-metionina descubiertos sorprendentemente por el inventor. Tampoco proporcionaron ningún motivo para investigar D-metionina como otoprotector, protector frente a la pérdida de peso, agente de potenciación de supervivencia, etc., ni ninguna expectativa razonable de que la metionina pudiera actuar de estas maneras durante la administración de cisplatino. Finalmente, Deegan *et al.*, no proporcionaron ninguna orientación ni sugerencia de cómo podría usarse la metionina como agente protector para diversas toxicidades en seres humanos, tal como se describe en el presente documento. Tal como indicó Schweitzer, Laryngoscope, 103, págs. 1-52 (1993) en la página 12, aunque diversos agentes protectores de azufre nucleófilos han mostrado que son eficaces en el bloqueo o la reversión de la toxicidad renal de CDDP mientras que se retiene la actividad quimioterápica del fármaco, ha de considerarse cada agente individualmente. Es necesario determinar los efectos sobre la actividad antineoplásica, las toxicidades de CDDP individuales y programas de dosificación basándose en sí mismo para cada compuesto.

En vista de lo anterior, no pudo predecirse la utilidad de D-metionina como otoprotector altamente eficaz, protector frente a la pérdida de peso, protector gastrointestinal, neuroprotector, protector frente a la alopecia y agente de potenciación de la supervivencia que no interfiere con la actividad antitumoral, y que no parece provocar ningún efecto secundario grave. De hecho, el descubrimiento de los efectos beneficiosos de la D-metionina es sorprendente en vista de los muchos problemas significativos, tratados anteriormente, que se encuentran con los nucleófilos que contienen azufre descritos previamente que excluyen su uso clínico.

#### Sumario de la invención

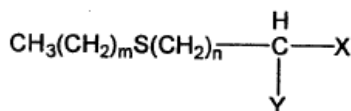
El presente inventor ha tratado la necesidad sentida desde hace mucho tiempo en la técnica de agentes protectores eficaces en la prevención o mejora de diversos efectos tóxicos de cisplatino y otros compuestos que contienen platino antitumorales, pero que no afectan significativamente a la actividad antineoplásica de estos compuestos, y que no provocan ellos mismos efectos secundarios perjudiciales como resultado de su administración. También se trata la necesidad sentida desde hace mucho tiempo en la técnica de agentes protectores eficaces en la prevención o mejora de diversos efectos tóxicos de la radiación. Sorprendentemente, se ha descubierto que la D-metionina, y compuestos relacionados estructuralmente, puede usarse como otoprotector, protector frente a la alopecia, protector gastrointestinal, neuroprotector, protector frente a la alopecia, protector frente a la mucositis y agente de potenciación de la supervivencia durante o tras el tratamiento de un mamífero con tales compuestos, o durante o tras la exposición de un mamífero a radiación.

Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención se refiere al uso de un agente protector que comprende metionina o un resto similar a metionina para preparar una composición farmacéutica para la prevención o reducción de mucositis en un paciente humano o animal, en el que el resto similar a metionina tiene la fórmula estructural:



en la que m es un número entero desde 0 hasta 3; n es un número entero desde 1 hasta 3; X = -OR<sup>1</sup>, -OCOR<sup>1</sup>, -COOR<sup>1</sup>, -CHO, -CH(OR<sup>1</sup>)<sub>2</sub> o -CH<sub>2</sub>OH; Y = -NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup> o -OH; R<sup>1</sup> = H o un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; R<sup>2</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; y R<sup>3</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la presente invención se refiere al uso de un agente protector que comprende metionina o un resto similar a metionina para preparar una composición farmacéutica para la prevención o reducción de daño en la piel en un paciente humano o animal, en el que dicho paciente humano o animal está sobreexposición a radiación y en el que el resto similar a metionina tiene la fórmula estructural:



- 5 en la que m es un número entero desde 0 hasta 3; n es un número entero desde 1 hasta 3; X = -OR<sup>1</sup>, -OCOR<sup>1</sup>, -COOR<sup>1</sup>, -CHO, -CH(OR<sup>1</sup>)<sub>2</sub> o -CH<sub>2</sub>OH; Y = -NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup> o -OH; R<sup>1</sup> = H o un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; R<sup>2</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; y R<sup>3</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que se administra el agente protector por vía oral a dicho paciente.
- 10 En otras realizaciones, el agente protector descrito anteriormente se selecciona del grupo que consiste en L-metionina, una mezcla de D-metionina y L-metionina, normetionina, homometionina, metioninol, etionina, una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y una combinación de los mismos.

15 Los objetivos, características y ventajas anteriores y otros de la presente invención se entenderán mejor a partir de la siguiente descripción detallada tomada junto con los dibujos adjuntos.

### Breve descripción de los dibujos

20 Las figuras 1A-1E muestran umbrales tras la prueba de ABR (medias ± 1 D.E.) desarrollados en el ejemplo 1 para los diversos grupos de animales para todos los estímulos, incluyendo: 1A) chasquidos; 1B) ráfagas tonales de 1000 Hz; 1C) ráfagas tonales de 4000 Hz; 1D) ráfagas tonales de 8000 Hz; y 1E) ráfagas tonales de 14000 Hz. \* indica diferente significativamente a los controles tratados con CDDP al nivel de p ≤ 0,01.

25 Las figuras 2A-2F son fotomicrografías SEM que representan los resultados para el ejemplo 1 de: 2A) espira media de control no tratado; 2B) espira media de control tratado (CDDP 16 mg/kg); 2C) espira media de animal al que se le administró D-Met 300 mg/kg antes de la dosis de CDDP 16 mg/kg; 2D) espira basal de control no tratado; 2E) espira basal de control tratado (CDDP 16 mg/kg); y 2F) espira basal de animal al que se le administró D-Met 300 mg/kg antes de la dosis de CDDP 16 mg/kg.

30 La figura 3 muestra la pérdida de peso promedio en gramos para los diversos grupos de animales estudiados en el ejemplo 1. \* indica diferente significativamente a los controles tratados con CDDP al nivel de p ≤ 0,01.

35 Las figuras 4A y 4B muestran los resultados del ejemplo 2 para las tasas de crecimiento celular y viabilidad de células irradiadas y control en presencia o ausencia de D-metionina.

La figura 5 es un gráfico que ilustra el porcentaje de células en el ejemplo 3 que tiene un fenotipo apoptótico.

40 La figura 6 muestra los resultados de la evaluación y cuantificación de eritema de labio que resulta del tratamiento previo y el tratamiento posterior de los animales del ejemplo 4 con D-metionina.

### Descripción detallada de la invención

45 Tal como se describe en el presente documento, el solicitante ha demostrado que la D-metionina previene la ototoxicidad inducida por CDDP, reduce la pérdida de peso inducida por CDDP, protege frente a toxicidad gastrointestinal inducida por CDDP, mucositis, neurotoxicidad y alopecia, y mejora la supervivencia durante el tratamiento con CDDP en un mamífero. El solicitante ha demostrado además que la D-metionina será eficaz en el tratamiento de ototoxicidad inducida por radiación, así como en la mejora de otros efectos secundarios inducidos por radiación tales como daño neural, alopecia, trastornos gastrointestinales, mucositis y en la mejora de la supervivencia del paciente.

50 Tal como se usa en el presente documento, el término "ototoxicidad" incluye, pero no se limita a, cualquier cambio perjudicial o patológico en la estructura o la función del oído, incluyendo cambios en la audición y el equilibrio. Los cambios funcionales auditivos pueden incluir, pérdida de audición u otros cambios en el umbral auditivo para cualquier estímulo, percepción del sonido incluyendo "reforzamiento" (aumento anómalo en la percepción del volumen), capacidad para identificar, localizar, reconocer, distinguir entre o procesar sonidos, y/o distorsión de los sonidos o cualquier anomalía tal como se mide mediante pruebas auditivas convencionales. Este término también incluye acúfenos (zumbidos o ruidos en el oído), que incluyen cualquier percepción del sonido que no es en respuesta a una señal externa. Además, la ototoxicidad incluye cualquier cambio funcional percibido o medido en el equilibrio o el sistema vestibular, incluyendo, pero sin limitarse a, o bien vértigo inducido o bien espontáneo, 55  
desequilibrio, aumento de la sensibilidad a cinetosis, náuseas, vómitos, nistagmo, síncope, aturdimiento, mareo, dificultad en el seguimiento visual secundario a trastorno o anomalía vestibular o del equilibrio tal como se mide en cualquier prueba de función vestibular o del equilibrio. Los cambios estructurales pueden incluir cualquier cambio 60

intra o extracelular, multicelular u orgánico en las rutas auditivas o vestibulares desde el oído externo hasta y a través, e incluyendo la corteza y todas las rutas entre las mismas.

5 La expresión “agente otoprotector” se refiere a un agente que previene, mejora o protege de otro modo frente a ototoxicidad.

10 El término “neurotoxicidad” incluye cualquier cambio perjudicial o patológico en la estructura o la función en el sistema neurológico o cualquier parte del mismo. Los cambios funcionales neurológicos pueden incluir neuropatía, o bien central o bien distal, incluyendo un patrón en “guante y medias” común, hormigueo, pérdida de sensibilidad, entumecimiento, disminución de la sensibilidad vibratoria, disminución de los reflejos tendinosos profundos, ataxia sensorial, neuritis, encefalopatía focal, afasia, neuropatía autónoma, hipotensión postural, síndrome similar a miastenia, calambres musculares, cefalea, convulsiones, ceguera o alteración visual secundaria a trastorno de la ruta neurológica visual u óptica, papiledema, pérdida de audición secundaria a trastorno de la ruta neurológica auditiva, y/o pérdida de la sensación del gusto. Los cambios estructurales pueden incluir cambios intra o extracelulares, multicelulares u orgánicos, en cualquier parte del sistema neurológico, incluyendo tanto el sistema periférico como el central. La neurotoxicidad puede manifestarse por sí misma durante o tras el ciclo de tratamiento con compuestos antitumorales que contienen platino.

20 La expresión “agente neuroprotector” se refiere a un agente que previene, mejora o protege de otro modo frente a neurotoxicidad.

25 La expresión “toxicidad gastrointestinal” incluye cualquier cambio perjudicial o patológico en la estructura o la función en el sistema gastrointestinal o cualquier parte del mismo. Los cambios gastrointestinales incluyen, por ejemplo, náuseas agudas o retardadas, vómitos, reflujo esofágico, estomatitis, hemorragia a lo largo del tracto gastrointestinal, diarrea, pérdida de peso y/o anorexia. La toxicidad gastrointestinal puede manifestarse por sí misma durante o tras el ciclo de tratamiento con compuestos antitumorales que contienen platino.

30 La expresión “agente protector gastrointestinal” se refiere a un agente que previene, mejora o protege de otro modo frente a toxicidad gastrointestinal.

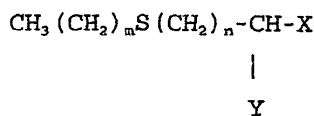
35 El término “mucositis” se refiere a inflamación, irritación o ulceración de las células de la mucosa en el organismo. Generalmente, la mucositis puede producirse en el oído medio, ojos, nariz, senos nasales, vagina, vías urinarias y cualquier parte a lo largo del tubo digestivo desde la boca hasta el ano. Más particularmente, la mucositis puede producirse debido a irritación o inflamación tisular provocadas por un aparato (por ejemplo, mucositis oral por prótesis dentales y mucositis debida a catéteres). Tal como se usa en el presente documento, el término mucositis generalmente abarca todas las formas de mucositis incluyendo mucositis oral (es decir, inflamación, irritación o ulceración de la mucosa oral), mucositis esofágica (es decir, inflamación, irritación o ulceración de la mucosa esofágica), mucositis gastrointestinal (es decir, inflamación, irritación o ulceración de la mucosa gastrointestinal) y mucositis auditiva (es decir, inflamación, irritación o ulceración del oído medio o la membrana de la ventana redonda del oído), mucositis de los ojos, mucositis de la cavidad nasal y los senos nasales, y mucositis de las vías urinarias y vaginal.

45 La expresión “agente protector frente a la mucositis” se refiere a un agente que previene, mejora o protege de otro modo frente a mucositis (por ejemplo, mucositis oral, mucositis esofágica y/o mucositis gastrointestinal).

#### Metionina y sus derivados

50 Se ha administrado D-metionina a seres humanos para diversos fines. Por ejemplo, se ha usado D-metionina marcada en C para la obtención de imágenes radiográficas, y se ha administrado DL-metionina para nutrición parenteral. Véanse, Meyer *et al.*, Eur. J. Nucl. Med., 10, 373-6 (1985); y Printen *et al.*, Am. J. Clin. Nutr., 32, págs. 1200-05 (1979). También se ha administrado D-metionina de manera segura a seres humanos por vía oral para estudios nutricionales. Véanse, Kaki *et al.*, Res. Comm. Chem. Path. Pharm., 36(1), págs. 101-9 (1987); Kies *et al.*, J. Nutr., 105, págs. 809-14 (1975); y Stegink *et al.*, J. Nutr., 116, págs. 1185-92 (1986). La metionina oral se vende como preparación de venta libre sin receta para controlar el pH urinario. Véase, Drug Facts and Comparisons, 3ª ed., pág. 2115 (J.P. Lippincott Company, San Luis, 1991). Las contraindicaciones son para los pacientes con historial de enfermedad hepática, y que la metionina en alta dosificación puede retrasar el crecimiento en niños cuando se proporciona durante un periodo de tiempo prolongado.

60 Los compuestos relacionados estructuralmente con D-metionina que pueden emplearse en la presente invención son los que contienen el resto C-S-C- (tioéter) que tienen la fórmula estructural:



en la que m es un número entero desde 0 hasta 3; n es un número entero desde 1 hasta 3; X = -OR<sup>1</sup>, -OCOR<sup>1</sup>, -COOR<sup>1</sup>, -CHO, -CH(OR<sup>1</sup>)<sub>2</sub> o -CH<sub>2</sub>OH; Y = -NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup> o -OH; R<sup>1</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono; R<sup>2</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono; y R<sup>3</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los grupos acilo descritos en el presente documento, o bien solos o bien que contienen los diversos sustituyentes definidos en el presente documento, pueden formar de uno a seis átomos de carbono en la cadena principal, y hasta aproximadamente 15 átomos de carbono en total. Los grupos alquilo inferior incluyen, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, hexilo, ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, y similares. Los sustituyentes de los grupos acilo sustituidos descritos en el presente documento pueden incluir, por ejemplo, grupos seleccionados de alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, átomos de O, S, N, P o halógeno (Cl, F, Br o I). Opcionalmente, estos grupos alquilo, cicloalquilo, etc. sustituyentes, pueden estar sustituidos con átomos de O, S, N, P o halógeno (Cl, F, Br o I). Estos grupos alquilo, cicloalquilo, etc. sustituyentes, incluyen, por ejemplo, grupos alcoxilo inferior tales como metoxilo, etoxilo y butoxilo, y grupos tales como halo, nitro, amino y ceto.

Los grupos alquenilo descritos en el presente documento, o bien solos o bien con los diversos sustituyentes definidos en el presente documento, son preferiblemente alquenilo inferior que contiene desde dos hasta seis átomos de carbono en la cadena principal, y hasta aproximadamente 15 átomos de carbono en total. Pueden ser de cadena lineal o ramificada, estar sustituidos, e incluyen etenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, isobutenilo, hexenilo.

Los grupos alquinilo descritos en el presente documento, o bien solos o bien con los diversos sustituyentes definidos en el presente documento, son preferiblemente alquinilo inferior que contiene desde dos hasta seis átomos de carbono en la cadena principal, y hasta aproximadamente 15 átomos de carbono en total. Pueden ser de cadena lineal o ramificada, estar sustituidos, e incluyen etinilo, propinilo, butinilo, isobutinilo, hexinilo.

Los restos arilo descritos en el presente documento, o bien solos o bien con diversos sustituyentes definidos en el presente documento, pueden contener desde aproximadamente 6 hasta aproximadamente 15 átomos de carbono, e incluyen fenilo. Los sustituyentes incluyen alcanoxilo, hidroxilo protegido, halógeno, alquilo, arilo, alquenilo, acilo, aciloxilo, nitro, amino, amido, etc. Fenilo es un arilo preferido.

Los restos heteroarilo descritos en el presente documento, o bien solos o bien con diversos sustituyentes definidos en el presente documento, pueden contener desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 15 átomos, e incluyen, furilo, tienilo, piridilo. Los sustituyentes incluyen alcanoxilo, hidroxilo protegido, halógeno, alquilo, arilo, alquenilo, acilo, aciloxilo, nitro, amino y amido.

Los grupos aciloxilo descritos en el presente documento pueden contener grupos alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo o heteroarilo.

Los átomos de carbono, es decir, los grupos metilo y metileno, que constituyen la estructura principal de la metionina o resto similar a metionina también pueden estar sustituidos tal como se describió anteriormente de forma diversa.

Los ejemplos de tales agentes protectores de metionina incluyen L-metionina, una mezcla de D-metionina y L-metionina, normetionina, homometionina, metioninol, etionina, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los agentes protectores de metionina de la presente invención pueden estar en la forma D, L o DL. D-metionina es un compuesto preferido.

Colectivamente, metionina, junto con los otros compuestos tratados anteriormente, pueden denominarse "agentes protectores de metionina." Estos compuestos pueden usarse solos o en diversas combinaciones entre sí en los métodos descritos en el presente documento.

En otra realización, dichos agentes protectores se seleccionan del grupo que consiste en de N-acetilcisteína (NAC), acetil-L-carnitina (ALCAR), ácido lipoico o combinaciones de los mismos en combinación con los agentes protectores de metionina descritos anteriormente.



Los compuestos pueden administrarse en combinación con los otros compuestos farmacológicos tratados en el presente documento, en forma del ácido soluble en agua, base libre, o como sales fisiológicamente aceptables, que incluyen sales de adición de ácido formadas con ácidos orgánicos e inorgánicos, por ejemplo, clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, fosfatos, citratos, fumaratos y maleatos, y cationes tales como sodio, potasio. Estos compuestos pueden formularse para la administración a seres humanos y animales con vehículos, excipientes y diluyentes farmacéuticamente aceptables, tales como agua destilada estéril, disolución de Ringer, solución salina normal, glucosa al 5%, dextrosa, fructosa, sacarosa, etc., y mezclas de los mismos, tal como se conoce en la técnica. También pueden incluirse agentes antimicrobianos, conservantes, etc. Las composiciones para administración oral pueden incluir agentes colorantes y aromatizantes. Métodos adicionales de formulación de compuestos de la presente invención para su administración en los métodos descritos en el presente documento pueden encontrarse, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, decimoquinta edición, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, 1975.

#### Compuestos de platino antitumorales

El cisplatino (CDDP; cis-diaminodicloro-platino(II)) es en la actualidad el compuesto de coordinación de platino antitumoral empleado más frecuentemente en terapia del cáncer de testículos, tumores de ovario, y una variedad de otros cánceres. En la técnica se conocen bien métodos de empleo de CDDP clínicamente. Véanse, Nicolini, M. (Ed.) "Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy. Proceedings of the 5th International Symposium on Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy, Padua, Italia, 29 de junio - 2 de julio de 1987," (Martincis Nijhoff Publishing, Boston 1987). Por ejemplo, CDDP puede administrarse en un solo día durante un período de seis horas, una vez al mes, mediante infusión intravenosa lenta. Para lesiones localizadas, pueden administrarse CDDP mediante inyección local. También puede emplearse infusión intraperitoneal. Puede administrarse CDDP en dosis de tan solo 10 mg/m<sup>2</sup> por tratamiento si es parte de un régimen de múltiples fármacos, o si el paciente presenta una reacción adversa a una dosificación mayor. En el extremo inferior, una dosis clínica más común es de aproximadamente 30 mg/m<sup>2</sup>; el extremo superior del intervalo es de desde aproximadamente 120 hasta aproximadamente 150 mg/m<sup>2</sup> por tratamiento. Cuando se usa junto con D-metionina u otros agentes protectores de metionina, pueden aumentarse estas dosificaciones.

CDDP es representativo de una amplia clase de compuestos de coordinación de platino, solubles en agua bien conocidos en la técnica que proporcionan platino en forma de un ion que tiene actividad antitumoral. Entre los compuestos de coordinación de platino antitumorales descritos en la bibliografía que son útiles de la presente invención están, por ejemplo, trans-diaminadicloro-platino(II), ion de cis-diamina-diacuoplatino(II), ion de cis-diaminadicloroplatino(II), cloruro de cloro(dietilentriamina)-platino(II), dicloro(etilendiamina)-platino(II), diamino(1,1-ciclobutanodicarboxilato)-platino(II) (carboplatino), espiroplatino, diclorotrans-dihidroxibisisopropolamina-platino IV (ipropilplatino), diamino(2-etilmalonato)-platino(II), etilendiamina-malonatoplatino(II), acuo(1,2-diaminodiclohexano)-sulfatoplatino(II), (1,2-diaminociclohexano)malonato-platino(II), (4-carboxifalato)(1,2-diaminociclohexano)-platino(II), (1,2-diaminociclohexano)-(isocitrato)platino (II), (1,2-diaminociclohexano)-cis(piruvato)platino(II) y (1,2-diaminociclohexano)-oxalatoplatino(II).

#### Agentes antineoplásicos

Diversos agentes antineoplásicos y combinaciones de los mismos se usan como tratamientos quimioterápicos. Estos agentes pueden usarse en combinación con otros tratamientos quimioterápicos o en combinación con radioterapia. Cuando se usan solos y/o en combinación con otras terapias, los agentes distintos de los agentes que contienen platino pueden provocar mucositis y otros efectos secundarios. Por tanto, los métodos de prevención son útiles para tratar mucositis inducida por la administración de L-asparaginasa, Ara-C, busulfano, ciclofosfamida, docetaxel, doxorubicina, edatrexato, etopósido, fludarabina, fluorouracilo, gencitabina, idarubicina, ifosamida, irinotecán, leucovorina, melfalán, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, oxaliplatino, paclitaxel, raltitrexed, tiotepa, vinorelbina. (Cancer, 2004, vol. 100(9), págs. 2007-2008)

#### Radiación

Generalmente, la sobreexposición a radiación electromagnética procedente de una variedad de fuentes puede producir mucositis, ototoxicidad, daño en la piel y otro daño tisular. Diversos tipos de exposición a radiación son radioterapia, radiación ultravioleta (UV), radiación de microondas, radiación gamma, rayos X.

la exposición a radiación, si es voluntaria, como en la radioterapia, o involuntaria, como por accidente, guerra o acto terrorista puede dar como resultado ototoxicidad, así como daño neural (neurotoxicidad), alopecia, trastornos gastrointestinales, mucositis, daño en la piel y reducción de la supervivencia del paciente. Aunque física en vez de química, la radiación puede considerarse otra "ototoxina" en vista de su toxicidad para el oído y la audición. La pérdida de audición inducida por radiación es más probable que implique el oído medio que la pérdida de audición provocada por compuestos que contienen platino o diuréticos del asa; sin embargo, también pueden producirse problemas cocleares y neurales.

La ototoxicidad inducida por radiación puede producirse como resultado de la exposición a 35-40 Gy de radiación o

más, como dosis o bien única o bien acumulativa. La toxicidad gastrointestinal inducida por radiación, que es similar a la que se produce durante la quimioterapia, incluye pérdida de electrolitos, infecciones secundarias, diarrea sanguinolenta y hemorragia gastrointestinal, y puede producirse tras la exposición a una dosis de radiación de desde aproximadamente 5 Gy hasta aproximadamente 20 Gy, o más.

5

### Mucositis

Las exposiciones involuntarias a radiación tales como las que se producen por accidente, guerra, acto terrorista e incluso exposición prolongada al sol; y particularmente las exposiciones voluntarias a radiación tales como dosis de radiación suministradas durante la quimioterapia y radioterapia diseñadas para destruir células cancerosas, inducen cambios inevitables en los tejidos normales circundantes, que pueden comprender la función celular global y las defensas del huésped conduciendo de ese modo a complicaciones graves. Por ejemplo, la quimioterapia y la radioterapia a niveles convencionales o a niveles de dosis mayores usados en regímenes de acondicionamiento (por ejemplo, radiación corporal total en la preparación para el trasplante de médula ósea [TMO]), a menudo dan como resultado eritema, atrofia y ulceración de la mucosa del tubo digestivo, un estado generalmente denominado mucositis. La mucositis puede manifestarse por sí misma en cualquier parte en el tubo digestivo entre la boca y el ano, por ejemplo, en la mucosa oral, mucosa esofágica o en la mucosa gastrointestinal. Aunque la descripción a continuación dará a conocer con particularidad el uso de agentes protectores de metionina para tratar o prevenir la mucositis oral (es decir, eritema, atrofia o ulceración de la mucosa oral), debe reconocerse que los principios descritos en el presente documento pueden aplicarse generalmente a otras formas de mucositis.

25

Aproximadamente la mitad de todos los pacientes que reciben quimioterapia y/o radioterapia desarrollan una mucositis oral tan grave que se vuelve limitante de la dosis. Por tanto, podrían potenciarse la remisión duradera de la enfermedad y las tasas de curación si se pudieran usar más terapias intensivas sin las consecuencias desfavorables de la mucositis oral limitante de la dosis.

Sin adherirse a una teoría particular, se cree que la fisiopatología de la mucositis oral resulta de una interacción compleja de daño tisular local, el entorno oral local, el nivel de mielosupresión del paciente y la predisposición intrínseca del paciente a desarrollar el estado. Un modelo biológico para la mucositis oral se basa en 4 fases interrelacionadas, que incluyen una fase inflamatoria/vascular inicial, una fase epitelial, una fase ulcerosa/bacteriológica y una fase de cicatrización. En la fase inflamatoria, los agentes quimioterápicos conducen a la liberación de interleucina 1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-alfa) desde el epitelio. IL-1 media la inflamación y dilata los vasos, aumentando potencialmente la concentración de agentes quimioterápicos en el sitio. TNF-alfa provoca daño tisular, tal vez de una forma creciente. Otras citocinas que son importantes supuestamente en la patogénesis de la mucositis oral y que tienen una posible aplicación terapéutica incluyen interleucina 11 (IL-11) y factor de crecimiento transformante-beta3 (TGF-beta3).

Durante la fase epitelial, la quimioterapia y/o exposición a radiación retrasan la división celular en el epitelio de la mucosa oral, lo que da como resultado una reducción de la renovación y el recambio epitelial. El resultado es eritema debido al aumento de vascularidad y atrofia epitelial 4-5 días tras el inicio de la quimioterapia. Microtraumatismos debidos a actividades diarias tales como habla, deglución y masticación conducen a ulceración. Durante la fase ulcerosa/bacteriológica subsiguiente (tiempo durante el cual se ha desarrollado neutropenia), se produce una supuesta colonización bacteriana de las úlceras, lo que da como resultado el flujo de endotoxinas hacia los tejidos de la mucosa y la posterior liberación de más IL-1 y TNF-alfa. Durante la cuarta y última fase de cicatrización, se produce proliferación celular con reepitelización de las úlceras, reconstitución de los glóbulos blancos efectúa un control local de bacterias y las úlceras se resuelven.

Además, puede producirse mucositis secundaria a traumatismo u otras heridas, aparatos irritantes (por ejemplo, prótesis dentales) u otras causas de daño epitelial e irritación o inflamación de la boca o el tubo digestivo.

50

Adicionalmente, puede producirse mucositis secundaria a una alteración de la función inmunitaria, baja producción salival, enfermedad periodontal o caries dentales. La "escasa función del intestino" también puede provocar mucositis gastrointestinal además de los elementos anteriores.

### Daño en la piel

Además de los efectos secundarios descritos anteriormente, el tratamiento de un paciente con agentes quimioterápicos y/o exposición a radiación puede provocar daño en la piel en un paciente. La exposición a radiación puede ser accidental o voluntaria. Puede surgir en el transcurso de una guerra, ataque terrorista, exposición prolongada al sol o por exposición a dosis de radiación suministradas durante la quimioterapia y radioterapia diseñadas para destruir células cancerosas. Puede producirse una gama de problemas en la piel. En particular, la exposición a radiación puede provocar eritema de leve a grave (es decir, enrojecimiento de la piel debido a dilatación capilar), descamación seca (por ejemplo, quemaduras, placas escamosas secas), descamación húmeda (por ejemplo, ampollas, placas escamosas húmedas) e inflamación de la zona afectada o expuesta. Las quemaduras solares pueden considerarse una forma de eritema.

65

Administración de agentes protectores de metionina

Los agentes protectores de metionina de la presente invención pueden administrarse generalmente mediante cualquiera de una amplia variedad de medios. Por ejemplo, en la presente invención se contempla que pueden proporcionarse los agentes protectores de metionina a un paciente mediante administración oral, administración parenteral, administración bucal, administración sublingual, administración rectal, administración tópica, administración nasal, por medio de colirios, gotas nasales o mediante inhalación. En una realización preferida, el agente protector se administra por vía oral o por vía parenteral, por ejemplo por vía intraperitoneal, mediante inyección intravenosa, infusión intravenosa, etc., tal como se describe en Remington's Pharmaceutical Sciences, Decimoquinta edición, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, 1975. Los agentes protectores también pueden administrarse mediante administración local. La administración localizada de agentes protectores de metionina puede llevarse a cabo mediante aplicación tópica empleando formulaciones farmacéuticas diseñadas para este fin tal como se conoce en la técnica, inyección local, etc.

Adicionalmente, la administración tópica del agente protector de la invención incluye la administración de una crema, gel, pasta, disolución, parche u otra preparación tópica apropiada a la piel, por ejemplo, mediante administración de una disolución tópica u otra preparación tópica al oído externo, oído medio o a la membrana de la ventana redonda del oído, tal como mediante la administración de gotas óticas al oído externo, oído medio o a la membrana de la ventana redonda del oído.

La administración tópica de los agentes protectores de la presente invención es particularmente ventajosa para determinados tipos de daño tisular inducido por radiación o inducido por quimioterapia. En particular, puede aplicarse una preparación tópica a la piel para reducir el daño en la piel (por ejemplo, eritema, quemadura solar, descamación seca, descamación húmeda, inflamación, etc.) que resulta de exposición a radiación. Además, se prefiere una preparación tópica para el tratamiento de mucositis auditiva. Particularmente, se aplica una preparación tópica usada para tratar la mucositis auditiva al oído medio, oído externo o membrana de la ventana redonda del oído. Más particularmente, se administran de manera tópica gotas óticas para tratar la mucositis auditiva; se aplican las gotas óticas al oído medio, el oído externo y la membrana de la ventana redonda del oído.

La administración de los agentes protectores de metionina de la presente invención simultáneamente a la administración de un agente quimioterápico que contiene platino puede realizarse de varias formas. Por ejemplo, cada agente puede formularse de forma individual y administrarse por separado al mismo tiempo por medio de cualquiera de las vías descritas en el presente documento o que son por lo demás convencionales en la técnica. Alternativamente, ambos pueden estar contenidos juntos en una formulación de dosis única que puede administrarse por una sola vía. Como en el caso del agente quimioterápico que contiene platino, puede administrarse la dosis de agente protector de metionina en un solo día.

Dosificaciones

Los agentes protectores que comprenden metionina o un resto similar a metionina descritos en el presente documento pueden emplearse en métodos para tratar pacientes humanos y animales que se someten a tratamiento con cantidades eficaces anticancerígenas de los agentes quimioterápicos que contiene platino para prevenir o reducir la ototoxicidad, pérdida de peso, toxicidad gastrointestinal, mucositis, neurotoxicidad, alopecia, y para prolongar la supervivencia. Además, pueden emplearse los agentes protectores descritos en el presente documento en métodos para tratar pacientes humanos y animales expuestos a niveles de radiación que pueden provocar efectos ototóxicos, tales como pérdida de audición, así como daño neural, alopecia, mucositis y trastornos gastrointestinales inducidos por radiación. Los presentes agentes protectores de metionina también pueden mejorar la supervivencia en pacientes expuestos a radiación.

Los métodos de la presente invención comprenden administrar al paciente una cantidad eficaz apropiada de un agente protector que comprende metionina o un resto similar a metionina antes de, simultáneamente a, o después de la administración de un agente quimioterápico que contiene platino, o la exposición del paciente a radiación. También pueden emplearse combinaciones de estos periodos de tiempo.

Cuando se administra por vía parenteral, la cantidad eficaz de agente protector puede estar en el intervalo de desde aproximadamente 1,0 mg/kg de peso corporal hasta aproximadamente 600 mg/kg de peso corporal. Más preferiblemente, la cantidad eficaz de agente protector oscila entre aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, incluso más preferiblemente entre aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 400 mg/kg de peso corporal.

Alternativamente, puede expresarse la cantidad eficaz de agente protector con una base de mol:mol con respecto a la cantidad eficaz anticancerígena del agente quimioterápico que contiene platino. Esta cantidad eficaz puede estar en el intervalo de desde aproximadamente 4:1 hasta aproximadamente 167:1, más preferiblemente desde aproximadamente 4,2 5:1 hasta aproximadamente 100:1, y lo más preferiblemente desde aproximadamente 4,68:1 hasta aproximadamente 20:1, de agente protector:agente quimioterápico que contiene platino, con una base molar. Una razón de dosificación de aproximadamente 18,75:1 con una base molar es una razón preferida.

Si es necesario, pueden modificarse las cantidades y las razones descritas anteriormente para diferentes agentes quimioterápicos que contiene platino, o para la exposición a radiación, mediante optimización de rutina, incluyendo monitorización de la eficacia y ajuste del efecto deseado, mediante los métodos descritos anteriormente.

5 Cuando se administra por vía oral, el agente protector debe administrarse en una cantidad que dará como resultado un nivel en suero sanguíneo equivalente al logrado mediante las dosificaciones administradas por vía parenteral expuestas anteriormente. Tales dosificaciones orales eficaces puede determinarlas fácilmente un experto habitual en la técnica mediante métodos *in vitro* o *in vivo* convencionales tales como los descritos en Remington's  
10 Pharmaceutical Sciences, decimoquinta edición, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, 1975.

15 Cuando se administra por vía tópica, se administra normalmente la cantidad eficaz de agente protector como formulación farmacéutica tal como una disolución tópica. La disolución tópica comprende normalmente desde aproximadamente 10 mg/ml hasta aproximadamente 50 mg/ml, preferiblemente desde aproximadamente 20 mg/ml hasta aproximadamente 30 mg/ml, y de la manera más preferible aproximadamente 25 mg/ml del agente protector.

#### Régimen de tratamiento

20 En los diversos métodos de la presente invención, puede administrarse la cantidad eficaz de agente protector antes de, de manera contemporánea con, o después de la administración de la cantidad eficaz de agente quimioterápico que contiene platino, o la exposición del paciente a radiación. También pueden emplearse combinaciones de estos periodos de tiempo. Generalmente, la administración previa de la cantidad eficaz del agente protector puede llevarse a cabo ampliamente dentro del periodo que oscila entre hasta 2 días (es decir, aproximadamente 48 horas o menos) antes de la administración del agente quimioterápico que contiene platino o la exposición a radiación. Asimismo, la  
25 administración posterior de la cantidad eficaz del agente protector puede llevarse a cabo dentro del periodo que incluye hasta 2 días (es decir, que incluye aproximadamente 48 horas o más) tras la administración del agente quimioterápico que contiene platino o la exposición a radiación.

30 Preferiblemente, la administración previa de la cantidad eficaz del agente protector de metionina es en el plazo de aproximadamente 24 horas antes de la administración del agente quimioterápico que contiene platino o la exposición a radiación; siendo la administración posterior en el plazo de aproximadamente 24 horas tras la administración del agente quimioterápico que contiene platino, o la exposición a radiación. Más preferiblemente, la administración previa es en el plazo de aproximadamente 6 horas antes de la administración del agente quimioterápico que contiene platino o la exposición a radiación; y la administración posterior es en el plazo de aproximadamente 6 horas  
35 tras la administración del agente quimioterápico que contiene platino o la exposición a radiación. Incluso más preferiblemente, la administración previa es en el plazo de aproximadamente 4 horas antes, y la administración posterior es en el plazo de aproximadamente 4 horas tras la administración del agente quimioterápico que contiene platino o la exposición a radiación. Incluso más preferiblemente, la administración previa de la cantidad eficaz de agente protector de metionina es en el plazo de aproximadamente 1 hora antes, y la administración posterior es en el plazo de aproximadamente 1 hora después, de la administración del agente quimioterápico que contiene platino o la exposición a radiación. Todavía más preferiblemente, la administración previa de la cantidad eficaz de agente protector de metionina es en el plazo de aproximadamente media hora antes, y la administración posterior es de aproximadamente media hora después, de la administración del agente quimioterápico que contiene platino o la  
40 exposición a radiación.

45 El agente quimioterápico que contiene platino puede administrarse por vía parenteral, por ejemplo mediante infusión intravenosa lenta, o mediante inyección local, tal como se trató anteriormente. El agente protector de metionina puede administrarse tal como se describió antes, preferiblemente, por vía oral, por vía parenteral, mediante inyección intravenosa o infusión lenta, por vía intraperitoneal o por vía tópica.

50 En una realización preferida de la presente invención, cuando se trata o previene la mucositis debida a exposición a radiación, la cantidad eficaz del agente protector puede administrarse antes de, simultáneamente con, o después de la exposición a radiación. Por ejemplo, se ha encontrado que administrar el agente protector a un paciente desde aproximadamente 6 horas antes de la exposición a radiación hasta aproximadamente 6 horas tras la exposición a radiación, preferiblemente desde aproximadamente 4 horas antes de la exposición a radiación hasta aproximadamente 4 horas tras la exposición a radiación, más preferiblemente desde aproximadamente 2 horas antes de la exposición a radiación hasta aproximadamente 2 horas tras la exposición a radiación, e incluso más preferiblemente desde aproximadamente 1 hora antes hasta aproximadamente 1 tras la exposición a radiación, puede prevenir o mejorar significativamente la mucositis en un paciente humano o animal.

60 Se han observado efectos tóxicos retardados debido a agentes quimioterápicos que contienen platino y exposiciones a radiación. Los efectos protectores de los presentes agentes protectores de metionina pueden potenciarse administrándolos de una manera complementaria durante del ciclo de la quimioterapia del paciente y/o después según sea necesario o según se desee. Por tanto, los métodos descritos en el presente documento pueden comprender además la administración semidiaria, diaria o semanal de una cantidad complementaria de agente protector (es decir, una cantidad de agente protector que es adicional a la cantidad eficaz de agente protector).

Dicho de otro modo, a menudo es beneficioso administrar dosis complementarias de los agentes protectores de la presente invención de modo que se mantengan niveles en suero sanguíneo eficaces de los agentes protectores. Generalmente, la administración de cantidades complementarias de agentes protectores debe dar como resultado que el nivel en suero sanguíneo del paciente humano o animal se mantenga dentro de al menos aproximadamente el 10%, preferiblemente desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 70%, y más preferiblemente dentro de aproximadamente el 40%, del nivel en suero sanguíneo del paciente que resulta de la administración de la cantidad eficaz de agente protector. Normalmente, se administran tales dosis dentro de los plazos de tiempo y dosificaciones expuestos anteriormente para la cantidad eficaz de agentes protectores, por ejemplo, semidiaria, diaria o semanal durante un periodo de desde aproximadamente uno hasta catorce días tras la administración de la cantidad eficaz.

Tal como con la cantidad eficaz de agente protector de metionina descrita anteriormente, el agente protector de metionina complementario puede administrarse generalmente mediante cualquiera de una amplia variedad de medios. Normalmente, se administra la cantidad complementaria de agente protector de la misma manera que la cantidad eficaz de agente protector. Preferiblemente, se administra la cantidad complementaria de agente protector por vía oral; por vía parenteral mediante inyección intravenosa o infusión lenta; por vía intraperitoneal o por vía tópica. Cuando se administra por vía parenteral, la cantidad complementaria del agente protector de metionina está preferiblemente en el intervalo de desde aproximadamente 1,0 mg/kg de peso corporal hasta aproximadamente 600 mg/kg de peso corporal, más preferiblemente desde aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal hasta aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, incluso más preferiblemente desde aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal hasta aproximadamente 400 mg/kg de peso corporal.

Alternativamente, la cantidad complementaria de agente protector de metionina administrada por vía parenteral diaria o semanal puede expresarse con una base de mol:mol con respecto a la cantidad eficaz anticancerígena de agente quimioterápico que contiene platino. Esta cantidad eficaz pues estar en el intervalo de desde aproximadamente 4:1 hasta aproximadamente 167:1, más preferiblemente desde aproximadamente 4,25:1 hasta aproximadamente 100:1, y lo más preferiblemente desde aproximadamente 4,68:1 hasta aproximadamente 20:1, de agente protector de metionina:agente quimioterápico que contiene platino, con una base molar. Se prefiere una razón de dosificación de aproximadamente 18,75:1 con una base molar.

Las dosis orales o parenterales administradas diariamente pueden estar dentro de los intervalos enumerados anteriormente. Cuando se administra por vía oral, deben diseñarse dosis diarias o semanales para lograr niveles en suero equivalentes a los logrados mediante la administración de las diversas dosis parenterales descritas anteriormente.

Cuando se administran por vía tópica, puede administrarse la cantidad complementaria de agente protector de la misma forma tal como se describió anteriormente para la cantidad eficaz, normalmente como formulación farmacéutica tal como una disolución tópica. Generalmente, la administración tópica complementaria comprende aplicar una disolución tópica que comprende desde aproximadamente 10 mg/ml hasta aproximadamente 50 mg/ml, preferiblemente desde aproximadamente 20 mg/ml hasta aproximadamente 30 mg/ml, y de la manera más preferible aproximadamente 25 mg/ml de agente protector.

En vista de los resultados presentados en el presente documento, el médico o médico veterinario, empleando los compuestos, las composiciones y los métodos descritos en el presente documento, podrá mantener cualquiera de los parámetros anteriores en un mamífero, especialmente un ser humano, en un nivel de desde aproximadamente el 70% hasta aproximadamente el 80% de la quimioterapia previa u otro tratamiento o nivel de exposición, más preferiblemente desde aproximadamente el 80% hasta aproximadamente el 90% de la quimioterapia previa u otro tratamiento o nivel de exposición, lo más preferiblemente desde aproximadamente el 90% hasta aproximadamente el 100% de la quimioterapia previa u otro tratamiento o nivel de exposición, tal como se midió mediante pruebas convencionales empleadas rutinariamente en la técnica. Estos compuestos y métodos también pueden usarse para el tratamiento de animales domésticos, tales como gatos y perros.

Las enseñanzas presentadas en el presente documento permiten el diseño de regímenes terapéuticos que pueden emplearse para reducir los efectos secundarios no deseados de compuestos antitumorales que contienen platino tales como CDDP, aumentar la dosificación de tales compuestos antitumorales para obtener una mayor tasa de curación de cáncer, y tal vez incluir pacientes más débiles en los protocolos de tratamiento que emplean tales compuestos antitumorales, de los que éstos se excluyen en la actualidad porque no pueden soportar las toxicidades asociadas con los mismos. Las enseñanzas dadas a conocer actualmente también permiten el diseño de regímenes terapéuticos útiles en la prevención o reducción de los efectos secundarios ototóxicos no deseados de la radiación, así como otros efectos secundarios inducidos por radiación tales como daño neural, alopecia, trastornos gastrointestinales, mucositis y disminución de la supervivencia del paciente.

La administración de D-metionina antes, durante o tras la administración de cantidades eficaces antineoplásicas de compuestos antitumorales que contienen platino tales como CDDP, o durante diversas combinaciones de estos periodos de tiempo, es particularmente útil en vista de la falta de interferencia de D-metionina con la acción

antitumoral de CDDP. Véanse, Jones y Basinger, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1937-42 (1989); y Melvik *et al.*, *Inorganica Chimica Acta*, 137, págs. 115-18 (1987).

5 Pueden usarse D-metionina y los compuestos relacionados estructuralmente reivindicados junto con compuestos antitumorales que contienen platino tal como CDDP durante la quimioterapia, y junto con el uso de radiación tal como se describe en el presente documento. Estos agentes protectores de metionina también pueden usarse para prevenir o reducir los efectos ototóxicos del ruido y la radiación, así como otros efectos secundarios de la radiación, tal como se describen en el presente documento.

#### 10 Optimización del régimen de tratamiento

En los usos descritos, pueden someterse a prueba diversos parámetros asociados con los sistemas vestibulares y de audición del paciente mediante métodos bien conocidos en la técnica para establecer valores iniciales de tratamiento previo. Tras la administración del agente protector de metionina, y durante el ciclo de quimioterapia y posteriormente, pueden monitorizarse los efectos ototóxicos mediante pruebas convencionales, y los resultados pueden compararse con los obtenidos antes del tratamiento para determinar si se ha producido algún cambio. Si se observa alguna alteración, la cantidad y/o el tiempo de administración del agente protector administrado junto con dosis posteriores del agente quimioterápico que contiene platino, o la exposición a radiación, pueden ajustarse de modo que se reduzcan o prevengan cambios ototóxicos adicionales sin disminuir sustancialmente la eficacia antineoplásica del agente quimioterápico que contiene platino o la radiación. Puede emplearse una modificación similar de los parámetros de tratamiento en el caso de pérdida de peso, toxicidad gastrointestinal debida o bien al agente quimioterápico que contiene platino o bien a la radiación, neurotoxicidad debida a o bien al agente quimioterápico que contiene platino o bien a la radiación, alopecia debida o bien al agente quimioterápico que contiene platino o bien a la radiación, y estado/supervivencia global del paciente debido a o bien el agente quimioterápico que contiene platino o bien a la radiación para optimizar los efectos protectores del agente protector con respecto a los mismos. Esto puede lograrse mediante pruebas apropiadas y comparación de valores antes y después del tratamiento, por ejemplo, peso del paciente y estado físico/médico/fisiológico del paciente, etc., realizándose ajustes del protocolo según sea necesario.

#### 30 **Ejemplos**

##### EJEMPLO 1

Los usos diferentes al tratamiento de mucositis o daño en la piel no son parte de la invención

35

##### Efecto otoprotector de D-metionina

Este experimento demuestra la eficacia de D-metionina en la prevención de una variedad de diferentes efectos secundarios tóxicos asociados con el uso de compuestos antitumorales que contienen platino, de los que se pone como ejemplo CDDP (cisplatino), en un mamífero.

40

##### Materiales y métodos

##### Animales

45

Tal como conocen bien los expertos habituales en la técnica, la rata es un animal de experimentación bien aceptado útil como modelo para estudios de toxicidad de CDDP en seres humanos.

Se obtuvieron conjuntos de datos completos para cinco grupos de ratas Wistar macho (280-421 g). Se anestesiaron todos los animales con IM 1 ml/mg de cóctel de Rompun (una disolución que contiene ketamina 86,21 mg/ml y xilazina 2,76 mg/ml) antes de todas las inyecciones y pruebas. Se complementó con anestesia según fue necesario con la mitad de las dosis durante las pruebas. Los cinco grupos incluyeron: un grupo control tratado que recibió CDDP 16 mg/kg disuelto en solución salina estéril normal (1 mg de CDDP/ml de solución salina normal; pH de la disolución 6,3) administrada mediante infusión i.p. con una bomba de infusión Harvard Apparatus, durante un periodo de 30 minutos, un grupo control no tratado que recibió un volumen equivalente de solución salina normal (pH 6,5) en lugar de CDDP, y tres grupos experimentales que recibieron D-metionina o bien 75, 150 o bien 300 mg/kg disuelta en 3-5 ml de solución salina normal (pH de la disolución 6,6) suministrada mediante inyección i.p. lenta (durante 1-2 minutos) 30 minutos antes de la misma infusión de CDDP que el grupo control tratado. Se prepararon en el momento tanto CDDP (adquirido de Sigma Chemical Co., San Luis) como D-metionina (adquirida de Acros Organics, Pittsburgh, PA) antes de cada experimento. Para el grupo control tratado, se necesitó un total de 10 animales para obtener 5 animales con conjuntos de datos completos porque el 50% de los animales no sobrevivió hasta el final del periodo de estudio. Se necesitaron sólo 5 animales en el control no tratado y en cada uno de los grupos tratados previamente con D-metionina porque todos los animales en cada uno de esos grupos sobrevivieron hasta el final del periodo de estudio.

65

El Comité de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Facultad de Medicina de la Universidad del Sur de

Illinois aprobó todo el cuidado y uso de los animales, y estuvo bajo la supervisión de la Unidad para el Laboratorio de Medicina Animal de la Facultad de Medicina de la Universidad del Sur de Illinois.

#### Potenciales provocados

5 Se usaron pruebas de respuesta auditiva del tronco encefálico (ABR, *Auditory Brainstem Response*) para evaluar el umbral auditivo. Las pruebas se produjeron justo antes de la administración del CDDP o la solución salina (con o sin un agente protector) y de nuevo 3 días después. Se realizaron todas las pruebas con el animal en una cabina IAC de doble pared.

10 Se colocaron electrodos de aguja de platino/iridio en el vértice (sin inversión) hasta un punto directamente por debajo del pabellón auditivo ipsilateral (con inversión) con un electrodo de conexión a tierra colocado en la pata trasera.

15 Se obtuvo una recogida de datos de ABR con un sistema Biologic Traveler con un estimulador de alta frecuencia realizado de manera personalizada adicional para 14000 Hz. Se midieron los umbrales de ABR en respuesta a chasquidos de 100 microsegundos y para ráfagas tonales con ascenso/caída de 1 ms y meseta de 0 ms reguladas mediante una envolvente de Blackman y centradas a las frecuencias de 1, 4, 8 y 14 kHz presentadas a 10/s. Se obtuvo una serie de intensidades para cada animal con NPS equivalente pico (NPSEP) de desde 100 hasta 0 dB para estímulos de chasquido y nivel de presión sonora (NPS) para las ráfagas tonales en decrementos de 10 dB. El término NPSEP significa que la amplitud del estímulo de chasquido desde el nivel inicial de estímulo previo hasta el primer pico es equivalente al NPS de un estímulo de tono puro que tiene el mismo nivel inicial de estímulo previo con respecto a la amplitud del pico. Se definió el umbral como la menor intensidad que puede provocar una respuesta detectable visualmente, reproducible.

25 Un total de 512 barridos constituyeron cada promedio. El tiempo de registro fue de 15 ms tras el inicio del estímulo. Se filtraron las respuestas de manera analógica con un paso banda de 30-3000 Hz.

30 Se monitorizó la temperatura rectal durante la totalidad de los registros, manteniéndose la temperatura del animal mediante una manta eléctrica.

#### Microscopía electrónica

35 Se sacrificaron los animales mediante decapitación mientras que estaban bajo anestesia general y se perfundieron las cócleas con fijador a través de los espacios perilinfáticos. El fijador principal fue glutaraldehído al 2,5% a 4°C en tampón fosfato 0,1 M (pH 7,4). Se perforó a mano un pequeño orificio en la cápsula ótica bajo la primera espira con un punzón afilado de tres lados. Se realizó la perfusión *in vitro* de manera intermitente en el plazo de 5 minutos desde el sacrificio a través del pequeño orificio en la rampa timpánica, permitiendo que saliese el líquido a través de la ventana oval abierta. Tras la fijación por perfusión, se extrajo la membrana de la ventana redonda, y se sumergieron las cócleas en glutaraldehído y se almacenaron en la nevera durante la noche.

45 Tras la fijación durante la noche en glutaraldehído, se aclararon las cócleas con tampón fosfato 0,1 M y se perfundieron cuidadosamente con el tampón a través de los espacios perilinfáticos ajustando de manera suelta el extremo de tubo de la jeringa de perfusión por encima de la abertura perforada en la rampa timpánica. Entonces se aclararon las cócleas con tampón 3 veces. Tras aclarar, se fijaron posteriormente las cócleas mediante una perfusión de OsO<sub>4</sub> al 1,5% (a 4°C) en tampón fosfato en una campana de extracción. Se continuó la fijación mediante inmersión y rotación en el mismo fijador durante 15 minutos. Se aclararon las cócleas de la misma manera que tras la fijación con glutaraldehído.

50 Bajo el microscopio de disección, se extrajo cuidadosamente la cápsula ósea de la cóclea.

Entonces se deshidrató en serie el tejido en etanol 2X al 50%, al 70%, al 85%, al 95% y 3X al 100%. Se secó cada muestra usando Peldri y se colocó sobre un portamuestras para recubrimiento por pulverización con platino de 13 nm. Se observó el tejido a través de un microscopio electrónico de barrido Hitachi S-500 y se tomaron fotografías en película Land de tipo 55 de Polaroid.

60 Se realizó un análisis semicuantitativo por espira para las células ciliadas externas de la siguiente manera: para cada espira de la cóclea, apical, media y de base, se examinó una muestra representativa. Para cada muestra, 11 células ciliadas internas sirvieron como guía para contar una sección de 33 células ciliadas externas u 11 por fila. Entonces, se contó el número de células ciliadas externas dañadas o ausentes en cada muestra.

#### Peso

65 Se midió el peso de cada animal en una balanza de triple brazo Ohaus antes de la administración del agente anestésico para la prueba previa y de nuevo antes de la prueba posterior tres días más tarde.

Análisis estadístico

Se analizaron los datos de ABR usando un análisis de la varianza (ANOVA) de tres factores con uno entre el factor sujeto (grupos) y dos dentro de factores sujeto (frecuencia y prueba previa frente a prueba posterior). Se analizó independientemente cada variable dependiente. Se llevaron a cabo pruebas después del ANOVA según el procedimiento HSD de Tukey. Se midió la pérdida de peso y/o la protección gastrointestinal usando el mismo tipo de análisis estadístico que las medidas de ABR. Se analizaron datos de SEM para cada espira usando un análisis de la varianza de una vía con análisis HSD de Tukey *post-hoc*. El criterio para la significación estadística para todas las medidas fue de  $p \leq 0,01$ .

ResultadosPérdida de la audición

Los umbrales de audición de ABR tras la prueba se presentan en las figuras 1A-1E. Tal como se esperaba, no se produjo ningún cambio de umbral significativo en respuesta a ningún estímulo en el grupo control no tratado, y se produjo un cambio de umbral marcado significativo en respuesta a todos los estímulos, pero particularmente para las altas frecuencias, en el grupo control tratado. Para los animales que recibieron D-metionina antes del CDDP, 2/5 y 3/5 de los animales que recibieron 75 y 150 mg/kg de D-metionina, respectivamente, tuvieron otoprotección completa tal como se define mediante ningún cambio de umbral de ABR significativo para ningún estímulo. Para la administración de 300 mg/kg de D-metionina, los 5 animales tuvieron otoprotección completa para todas las condiciones de estímulo. Todos los grupos experimentales que recibieron algún nivel de D-metionina tuvieron umbrales de ABR significativamente inferiores que el grupo control tratado para todos los estímulos, tal como lo hizo el grupo control no tratado. Esta protección observada de la pérdida de audición puede producirse no sólo como resultado de la protección de mecanismos cocleares, sino que también como resultado de la protección de la ruta neural auditiva (es decir, neuroprotección).

Histología

Los hallazgos histológicos (figuras 2A-2F) concordaron con los hallazgos de ABR. Todos los grupos tuvieron esencialmente recuentos de células ciliadas normales para la espira apical, sin diferencias significativas entre los grupos. Para las espiras media y basal, sólo el grupo control tratado mostró hallazgos diferentes significativamente con respecto al grupo control no tratado y con respecto a los tres grupos que recibieron administración previa de D-metionina, afectándose más sistemáticamente la espira basal que la espira media.

Perdida de peso

La pérdida de peso inducida por CDDP disminuyó a medida que aumentó la dosificación de D-metionina (figura 3). La pérdida de peso en el grupo experimental que recibió 300 mg/kg fue significativamente menor que la del grupo control tratado. La cantidad de pérdida de peso a lo largo de los grupos se correlacionó significativamente con la cantidad de cambio de umbral para todos los estímulos, siendo la mayor correlación para el estímulo de 14 kHz.

Neuroprotección

Los animales que recibieron D-metionina tuvieron perceptiblemente mucha más vitalidad, estuvieron más activos y coordinados en la mañana del tercer día en comparación con los animales supervivientes del grupo control tratado.

Alopecia

Los pelajes de los animales que recibieron D-metionina fueron perceptiblemente superiores a los animales del grupo control, y mostraron una pérdida de pelo significativamente menor.

Supervivencia durante el periodo de estudio

Los 15 animales/15 que recibieron algún nivel de D-metionina sobrevivieron hasta el final del periodo de estudio en comparación con los 5 animales/10 del grupo control tratado.

Discusión

Los resultados anteriores demuestran que 300 mg/kg de D-metionina administrada 30 minutos antes de 16 mg/kg de CDDP proporciona otoprotección completa, tal como se indica mediante los hallazgos histológicos y ABR, mientras que también se reduce la pérdida de peso, toxicidad gastrointestinal, neurotoxicidad, alopecia inducidas por CDDP y mejora la supervivencia.

Mientras que no pretenda limitarse a ninguna teoría particular, se plantea la hipótesis de que la D-metionina puede proporcionar estos efectos protectores mediante uno cualquiera o más de varios mecanismos diferentes.



Según Schweitzer, *Laryngoscope*, 103, págs. 1-52 (1993), los compuestos que contienen azufre pueden impedir que CDDP interacte con moléculas diana intracelulares, el oxígeno nucleófilo o átomos de azufre que interactúan con el sitio electrófilo del CDDP, desplazando o extrayendo así el platino tras unirse. De manera teórica, estos agentes proporcionan protección debido a su alta afinidad por complejos de platino. Se sabe que CDDP reacciona con el grupo sulfhidrilo de metionina. Véase, Lempers *et al.*, *Inorgan. Chem.*, 29, págs. 217-22 (1990).

CDDP puede unirse preferentemente a D-metionina libre, protegiendo así el glutatión. El glutatión reducido es una parte esencial de las rutas antioxidantes. CDDP reduce los niveles de glutatión renal, lo que da como resultado un aumento de la peroxidación lipídica. Véanse, Hannemann *et al.*, *Toxicology*, 51, págs. 119-32 (1988); Sugihara *et al.*, *Jpn. J. Pharm.*, 44, págs. 71-76 (1987); Sugihara *et al.*, *Jpn. J. Pharm.*, 43, págs. 247-52 (1987); Boogaard *et al.*, *Biochem. Pharm.*, 41(3), págs. 369-75 (1991). CDDP también reduce los niveles de glutatión en la cóclea y el colículo inferior. Véanse, Ravi *et al.*, *Pharmacologist*, 33(3), pág. 217 (1991). Trabajos más recientes investigaron cambios específicamente en el sistema antioxidante coclear. Véanse, Ravi *et al.*, *Pharmacol. Toxicol.*, 76, págs. 386-94 (1995); Rybak *et al.*, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 26, págs. 293-300 (1995). La administración sistemática de CDDP disminuyó los niveles de glutatión reducido (GSH), y redujo la actividad de las enzimas glutatión peroxidasa (GSH-Px) y glutatión reductasa (GR). No se encontró glutatión oxidado ni disulfuro de glutatión (GSSG), lo que sugiere que los niveles de glutatión globales disminuyeron en vez de meramente oxidarse. Ravi *et al.*, *Pharmacol. Toxicol.*, 76, págs. 386-94 (1995) también notificaron un aumento de los niveles de malondialdehído (MDA) coclear, lo que refleja un aumento de la peroxidación lipídica. Debido a que CDDP no aumenta el nivel de radicales libres en general tal como lo describieron Hannemann *et al.*, *Toxicology*, 51, págs. 119-32 (1988), la conservación del sistema antioxidante puede ser crítica en la prevención de los efectos secundarios de CDDP.

La administración previa de D-metionina puede proteger los grupos de azufre de las proteínas, incluyendo L-metionina unida a proteína. CDDP se une a los grupos metionina en la proteína y a glutatión. Véanse, Lempers *et al.*, *Inorgan. Chem.*, 29, págs. 217-22 (1990). Schweitzer, *Laryngoscope*, 103, págs. 1-52 (1993) sugiere que la unión de platino a los grupos sulfhidrilo de la proteína puede provocar nefrotoxicidad de CDDP, lo que explica la acción neuroprotectora de los tioles. Es lógico que la D-metionina libre pueda unirse preferentemente a CDDP debido al impedimento estérico de los grupos de azufre unidos a la proteína. Esta protección puede producirse mediante unión preferente del CDDP a D-metionina, o tal vez D-metionina podría invertir la unión de Pt al glutatión y metionina unida a proteína, tal como lo hacen los otros compuestos que contienen azufre. Véanse, Lempers *et al.*, *Inorgan. Chem.*, 29, págs. 217-22 (1990). La metionina puede desplazar platino unido a plasma. Véanse, Alden *et al.*, *Chem. Biol. Interact.*, 48(1), págs. 121-4 (1984).

La unión de D-metionina a CDDP también puede proteger la L-metionina (L-Met) libre, un aminoácido esencial. La administración parenteral de D,L-metionina en seres humanos da como resultado mayores niveles en plasma del isómero D. Véase, Printen *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.*, 32, págs. 1200-05 (1979). Debido a que la D-metionina se metaboliza mucho menos que la L-Met en seres humanos, ésta puede permanecer más disponible para la unión a CDDP, protegiendo así la L-Met para la síntesis proteica, la activación celular y el metabolismo necesarios.

Afortunadamente, la D-metionina no inhibe la acción antitumoral de CDDP tal como se determinó frente al carcinosarcoma de Walker 256 en la rata. Véase, Jones y Basinger, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1937-42 (1989). La administración previa de metionina, presumiblemente una mezcla racémica, realmente sensibilizó células cancerosas *in situ* de carcinoma de cuello uterino humano *in vitro* NHIK 3025 frente a citotoxicidad de CDDP. Véase, Melvik *et al.*, *Inorganica Chimica Acta*, 137, págs. 115-18 (1987).

Varios factores pueden explicar la acción protectora frente a CDDP de D-metionina en células no tumorales en comparación con células tumorales. El metabolismo de metionina es claramente diferente en células tumorales y no tumorales, pero no se ha elucidado cómo estas diferencias pueden dar como resultado una acción frente a CDDP diferencial. Los efectos tóxicos de CDDP también pueden ser diferentes en células tumorales y no tumorales. El efecto antitumoral de CDDP resulta principalmente de la reacción de cisplatino con el ADN, principalmente en la posición de bisguanina N-7. Inicialmente, se forman monoadductos, seguido por una rápida reticulación intracatenaria, lo que provoca citotoxicidad. Véase, Tognella, *Cancer Treat. Rev.*, 17, págs. 139-42 (1990). La unión de platino a ligandos citosólicos y fracciones de nucleoproteínas también puede desempeñar un papel, pero aún no se han definido los receptores y las interacciones. Véase, Schweitzer, *Laryngoscope*, 103, págs. 1-52 (1993). La unión a ADN significativa en células normales es menos probable porque se abren menos horquillas de replicación de ADN en cualquier punto en el tiempo, a diferencia de las células tumorales que se dividen rápidamente. En células no tumorales, los efectos tóxicos pueden ser secundarios en gran parte a la unión con aminoácidos, o bien libres o bien unidos a proteína, y a la desactivación de la ruta antioxidante, tal como se describió anteriormente.

La sincronización de las reacciones de CDDP también puede ser diferente en células tumorales y no tumorales. La captación de CDDP por el carcinosarcoma de Walker 256 en la rata es muy rápida, produciéndose en los primeros minutos tras la administración, seguido por una rápida redistribución que es completa en el plazo de 15 minutos tras la inyección. Véase, Jones y Basinger, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1937-42 (1989). Debido a que la captación de CDDP en las células tumorales es muy rápida, la unión a los grupos bisguanina del ADN, particularmente en las horquillas de replicación abiertas, puede producirse más rápidamente que la reacción de CDDP con metionina.

Aunque la captación de CDDP en el riñón también es rápida (Véase, Jones y Basinger, *Anticancer Res.*, 9, págs. 1937-42 (1989)), la unión de CDDP a la proteína es relativamente lenta. Tal como se revisó por Schweitzer, citado anteriormente, tras la administración i.v. de cisplatino, el 90% de cisplatino se une a proteína en el plazo de 2 horas, con semividas de 25 a 50 minutos y de 53 a 73 horas para platino no unido y unido, respectivamente. Los niveles en tejido de platino disminuyen lentamente. El platino todavía puede medirse durante una semana tras la administración a alta dosificación, y todavía pueden estar presentes fragmentos unidos cuando el paciente inicia el siguiente ciclo de tratamiento. La captación de platino en la estría vascular y el órgano de Corti aumenta al menos durante un periodo de 24 horas, lo que puede subyacer a la ototoxicidad acumulativa relacionada con la dosis, pero también puede dejar tiempo para la unión de CDDP a D-metionina antes de la captación en la cóclea.

Sin embargo, las toxicidades de CDDP tanto en células tumorales como no tumorales son complejas, y pueden estar implicados muchos factores en la acción protectora de la D-metionina.

Tange *et al.* y Hoeve *et al.* han demostrado una correlación positiva entre la pérdida de peso y la pérdida de células ciliadas externas en cobayas, pero en ambos estudios se observó una variabilidad entre sujetos marcada. Véanse, Tange *et al.*, "The Cortitoxic Effect of Cis-Platinum in the Guinea Pig," *Arch. Oto-Rhino-Laryngol.* 237, págs. 17-26 (1982); y Hoeve *et al.*, "Correlations between Cis-Platinum Dosage and Toxicity in a Guinea Pig Model," *Arch. Otorhinolaryngol.*, 245, págs. 98-102 (1988). Los datos presentados anteriormente revelaron una correlación positiva entre la pérdida de peso y la pérdida de umbral que aumentó a medida que aumentó la frecuencia de estímulos. La reducción significativa en la pérdida de peso con la administración previa de 300 mg/kg de D-metionina sugiere que la D-metionina también alivia algunas de las toxicidades gastrointestinales de CDDP. La mejora en la pérdida de peso por D-metionina también podría estar relacionada con una disminución en la nefrotoxicidad u otros factores.

La eliminación de la mortalidad por CDDP en este estudio mediante la administración previa de cualquiera de los tres niveles de D-metionina demuestra una mejora marcada en el estado de salud global de los animales. La administración previa de D-metionina, por tanto, puede ser útil en el cambio de nivel de DL<sub>50</sub> de CDDP y otros agentes antitumorales que contienen platino, lo que permite el uso seguro de mayores niveles de estos agentes durante la quimioterapia, con una mejora potencial de la tasa de curación del cáncer.

#### EJEMPLO 2

Este ejemplo demuestra el uso de D-metionina para proteger células durante radioterapia para el cáncer. Se llevó a cabo el experimento investigando la sensibilidad de una línea celular de glándula salival humana con respecto a la sensibilidad a la radiación en presencia y ausencia de D-metionina. Se usaron siete condiciones que comprendían un control no tratado, un control tratado con D-metionina (1 mg/ml) solo, un control tratado con radiación ionizante (10 Gy) sola, y cuatro grupos que se trataron con D-metionina seis horas antes de irradiarse con radiación ionizante (10 Gy). Las cuatro condiciones tratadas con D-metionina antes de la exposición a radiación se trataron con D-metionina 1 mg/ml, D-metionina 0,5 mg/ml, D-metionina 0,2 mg/ml y D-metionina 0,1 mg/ml, respectivamente.

Se inocularon células derivadas de glándulas salivales humanas en placas de 10 cm<sup>2</sup> y se monitorizaron para determinar las tasas de crecimiento y la viabilidad mediante recuento durante 9 días. Cada conjunto de condiciones incluyó 9 placas de células, una para cada día. Cada día, se recogió una placa representativa y se contaron el número de células en la placa mediante exclusión con azul tripano. Los resultados para las tasas de crecimiento celular y la viabilidad de células irradiadas y control en presencia o ausencia de D-metionina se muestran en las figuras 4A y 4B.

Haciendo referencia a la figura 4A, las células control no tratadas crecieron de manera logarítmica durante 7 días tras los cuales se volvieron estacionarias. Por el contrario, las células control irradiadas con 10 Gy no experimentaron crecimiento en fase logarítmica. Cuando se examinó la viabilidad en estos cultivos (figura 4B), las células control no tratadas tuvieron una viabilidad del 80% al 95% en la totalidad de los 7 días, mientras que las células control irradiadas tuvieron una viabilidad de sólo el 65% en el día uno y la viabilidad disminuyó hasta el 25% en el día 7. Cuando se trataron previamente las células irradiadas con D-metionina 1,0, 0,5, 0,2 y 0,1 mg/ml, las células experimentaron crecimiento en fase logarítmica a pesar de haberse irradiado con 10 Gy (figura 4A). Las células tratadas también mantuvieron una alta viabilidad (85-95%, figura 4B). Estos resultados demostraron que la D-metionina protege las células frente a los efectos citotóxicos de la irradiación ionizante.

#### EJEMPLO 3

Este ejemplo demuestra el uso de D-metionina para proteger células frente a la apoptosis durante radioterapia para el cáncer. Se cultivaron en placas células epiteliales de glándulas salivales humanas y se tiñeron con yoduro de propidio para determinar la tasa de apoptosis tras 24 horas. No se trató un conjunto como control y otro se irradió con 10 Gy a la mañana siguiente. Un tercer conjunto se trató previamente con diversas dosis de D-metionina (1,0 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,2 mg/ml y 0,1 mg/ml) seis horas antes del tratamiento con radiación (10 Gy). Las células no tratadas que se irradiaron demostraron la presencia de núcleos picnóticos, condensados que es un sello distintivo de la apoptosis cuando se irradian las células. Por el contrario, se mostró que el tratamiento previo de las células con D-

metionina antes de la irradiación bloqueaba la apoptosis dado que se observó que pocas células contenían núcleos condensados, picnóticos. Se usaron múltiples campos para determinar el porcentaje de células que tenían un fenotipo apoptótico, a partir de lo cual se representaron gráficamente los porcentajes calculados tal como se muestran en la figura 5. En resumen, la irradiación de células HSG dio como resultado una apoptosis de aproximadamente el 60% tras 24 horas, mientras que el tratamiento previo con diversas concentraciones de D-metionina mostró disminuciones significativas en la apoptosis hasta aproximadamente el 20%.

#### EJEMPLO 4

Este ejemplo demuestra el uso de D-metionina para el tratamiento o la prevención de mucositis oral inducida por radiación. El experimento se llevó a cabo usando un modelo de ratón de eritema de labio inducido por radiación. Se usaron cuatro grupos de ratones (n=5). El primer grupo (grupo A) era un grupo control, no tratado. Se irradió el segundo grupo (grupo B) con radiación ionizante (6 Gy/día) durante 5 días. Se irradió el tercer grupo (grupo C) con radiación ionizante (6 Gy/día) durante cinco días y se trató con D-metionina (150 mg/kg) seis horas antes de la irradiación de cada día. Se irradió el cuarto grupo (grupo D) con radiación ionizante (6 Gy/día) durante cinco días y se trató con D-metionina (150 mg/kg) una hora tras la irradiación de cada día.

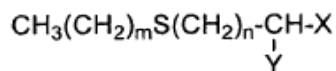
Se usaron dos observadores independientes para puntuar el experimento y expresar los resultados cuantitativamente tal como se muestra en la figura 6. La irradiación de los ratones dio como resultado eritema de labio (es decir, enrojecimiento, inflamación, descamación de los labios). Tanto el tratamiento previo como el tratamiento posterior de los animales con D-metionina previnieron la aparición de eritema de labio.

El experimento determinó adicionalmente que la administración de irradiación posterior de D-metionina no interfiere con la actividad antitumoral de la radioterapia. Además, o bien el tratamiento previo o bien el posterior de animales que portan tumores con D-metionina (150 mg/kg x 5, i.p.) no interfirió con la actividad antitumoral de la radiación ionizante.

Los resultados del experimento demostraron claramente que la D-metionina protege a los ratones frente al eritema de labio inducido por radiación (un modelo para la mucositis oral). Además, se demuestra que la administración de D-metionina antes y/o después de radioterapia es eficaz sin interferir con la actividad antitumoral de la radiación ionizante. Sin adherirse a una teoría particular, se cree que la D-metionina puede proteger selectivamente las membranas mitocondriales de células huésped normales frente al daño por radiación, protegiendo de ese modo las células frente a la apoptosis. Sin embargo, los datos sugieren que la D-metionina no protege frente al daño mitocondrial que da como resultado la muerte celular en células tumorales. Estos datos de animales proporcionan un buen fundamento para la evaluación de D-metionina para la prevención y el tratamiento de la mucositis oral inducida por tratamiento con radiación.

## REIVINDICACIONES

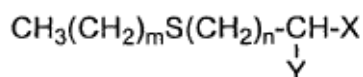
1. Uso de un agente protector que comprende metionina o un resto similar a metionina para preparar una composición farmacéutica para la prevención o reducción de mucositis en un paciente humano o animal, en el que el paciente humano o animal se expone a radiación o se somete a tratamiento con una cantidad eficaz quimioterápica de un agente antineoplásico y en el que el resto similar a metionina tiene la fórmula estructural:



- 10 en la que m es un número entero desde 0 hasta 3; n es un número entero desde 1 hasta 3; X = -OR<sup>1</sup>, -OCOR<sup>1</sup>, -COOR<sup>1</sup>, -CHO, -CH(OR<sup>1</sup>)<sub>2</sub> o -CH<sub>2</sub>OH; Y = -NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>; R<sup>1</sup> = H o un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; R<sup>2</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; y R<sup>3</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; o

- 15 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Uso de un agente protector que comprende metionina o un resto similar a metionina para preparar una composición farmacéutica para la prevención o reducción de daño en la piel en un paciente humano o animal en el que dicho paciente humano o animal está sobreexpuesto a radiación y en el que el resto similar a metionina tiene la fórmula estructural:



- 25 en la que m es un número entero desde 0 hasta 3; n es un número entero desde 1 hasta 3; X = -OR<sup>1</sup>, -OCOR<sup>1</sup>, -COOR<sup>1</sup>, -CHO, -CH(OR<sup>1</sup>)<sub>2</sub> o -CH<sub>2</sub>OH; Y = -NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>; R<sup>1</sup> = H o un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; R<sup>2</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; y R<sup>3</sup> = H o un grupo acilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en el que el agente protector se administra por vía oral a dicho paciente.

3. Uso según la reivindicación 1, en el que el agente antineoplásico es un compuesto de coordinación de platino antitumoral.

4. Uso según la reivindicación 2, en el que dicho paciente humano o animal se somete a tratamiento con una cantidad eficaz quimioterápica de un compuesto de coordinación de platino antitumoral.

- 40 5. Uso según la reivindicación 1, en el que dicho agente antineoplásico es L-asparaginasa, Ara-C, busulfano, ciclofosfamida, docetaxel, doxorubicina, edatrexato, etopósido, fludarabina, fluorouracilo, gencitabina, idarubicina, ifosamida, irinotecán, leucovorina, melfalán, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, oxaliplatino, paclitaxel, raltitrexed, tiotepa o vinorelbina.

- 45 6. Uso según la reivindicación 2, en el que el agente protector se selecciona del grupo que consiste en L-metionina, una mezcla de D-metionina y L-metionina, normetionina, homometionina, metioninol, etionina, una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y una combinación de los mismos.

- 50 7. Uso según la reivindicación 1, en el que el agente protector se selecciona del grupo que consiste en L-metionina, una mezcla de D-metionina y L-metionina, normetionina, homometionina, metioninol, etionina, una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y una combinación de los mismos.

8. Uso según la reivindicación 7, en el que el agente protector es D-metionina.

- 55 9. Uso según la reivindicación 7, en el que el agente protector es L-metionina.

10. Uso según la reivindicación 7, en el que el agente protector es D,L-metionina.

- 60 11. Uso según la reivindicación 1 ó 4, en el que el compuesto de coordinación de platino antitumoral o agente antineoplásico es cis-diaminodicloro-platino(II), trans-diaminodicloro-platino(II), ion de cis-diamina-diacuoplatino(II), ion de cis-diaminodicloroplatino(II), cloruro de cloro(dietilentriammina)-platino(II), dicloro(etilendiamina)-platino(II), diamino(1,1-ciclobutanodicarboxilato)-platino(II) (carboplatino), espiroplatino, dicloro-trans-

dihidroxibisisopropolamina-platino IV (iproplatino), diamino(2-etilmalonato)-platino(II), etilendiamina-malonatoplatino(II), acuo(1,2-diaminodieciclohexano)sulfatoplatino(II), (1,2-diaminociclohexano)malonato-platino(II), (4-carboxifitalato)(1,2-diaminociclohexano)-platino(II), (1,2-diaminociclohexano)-(isocitrato)platino(II), (1,2-diaminociclohexano)-cis(piruvato)platino(II) o (1,2-diaminociclohexano)-oxalatoplatino(II).

- 5 12. Uso según la reivindicación 3, en el que va a administrarse el agente protector antes de, simultáneamente a, o después de la administración de dicha cantidad eficaz quimioterápica de un compuesto de coordinación de platino antitumoral.
- 10 13. Uso según la reivindicación 1, en el que va a administrarse el agente protector antes de, simultáneamente a, o después de dicha exposición a radiación.
14. Uso según la reivindicación 1, en el que va a administrarse el agente protector antes de, simultáneamente a, o después de la administración de dicha cantidad eficaz quimioterápica de un agente antineoplásico.
- 15 15. Uso según la reivindicación 3 ó 4, en el que va a administrarse una cantidad complementaria del agente protector tras la administración de dicha cantidad eficaz de dicho agente protector.
16. Uso según la reivindicación 1, para prevenir o reducir la mucositis oral.
- 20 17. Uso según la reivindicación 2, en el que dicho daño en la piel comprende eritema.
18. Uso según la reivindicación 2, en el que dicho daño en la piel comprende quemaduras solares.
- 25 19. Uso según la reivindicación 2, en el que dicho daño en la piel comprende descamación seca, descamación húmeda e inflamación.

FIG. 1A

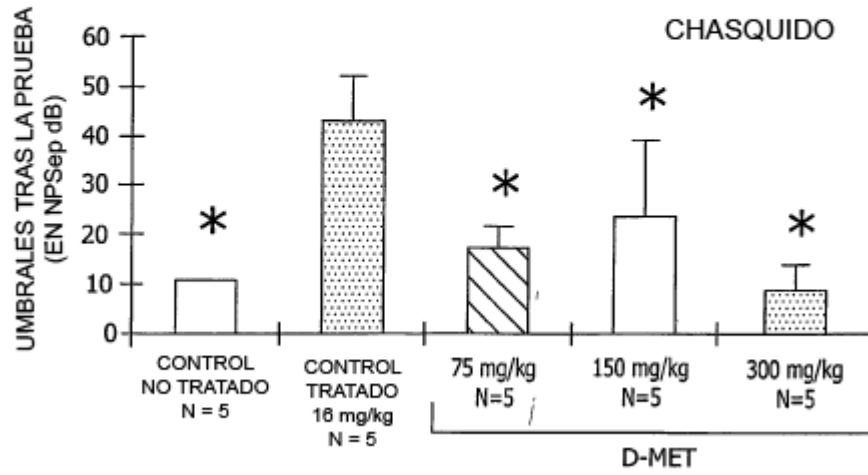


FIG. 1B

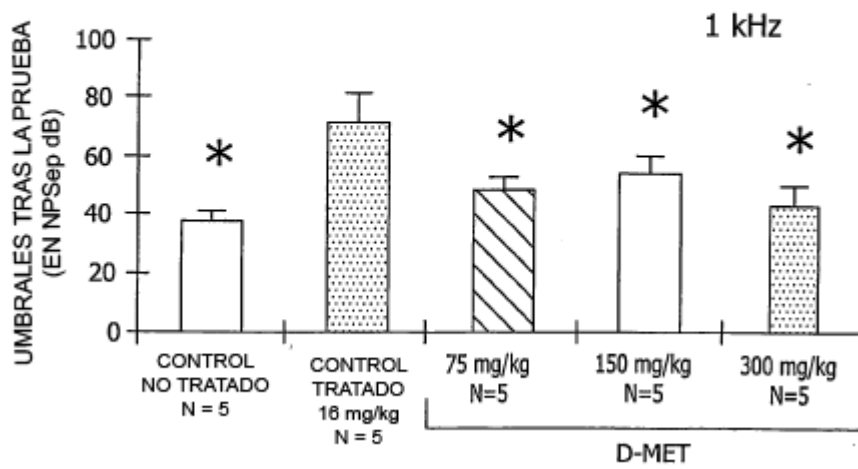


FIG. 1C

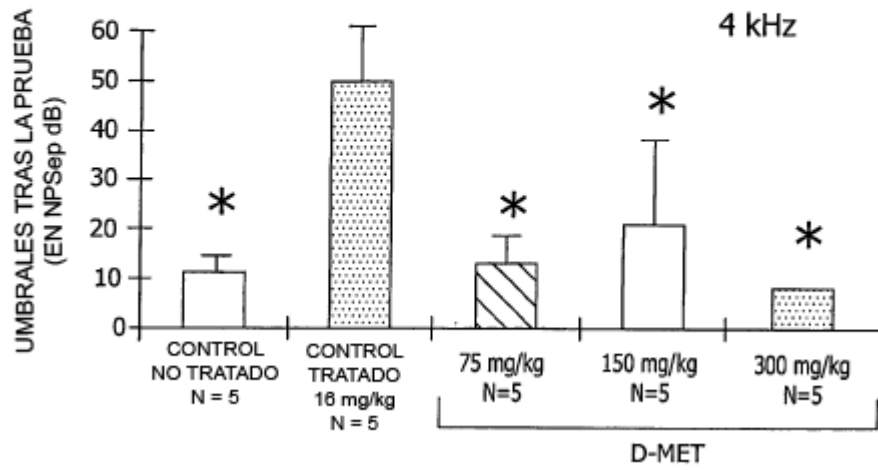


FIG. 1D

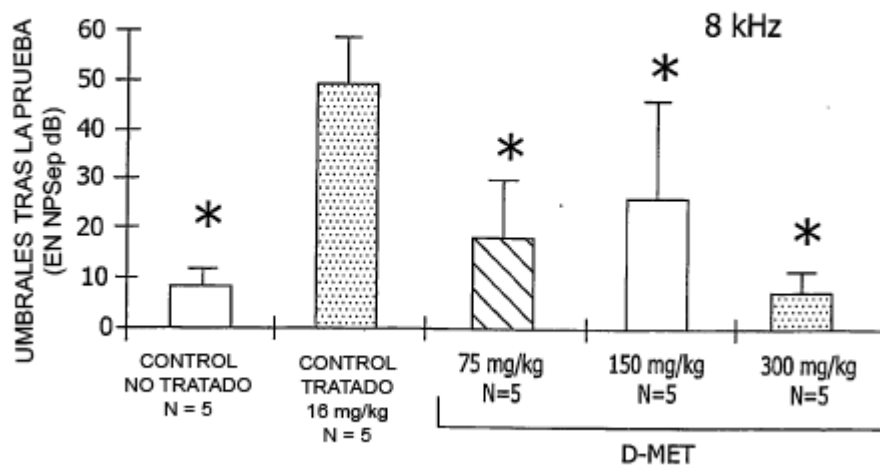


FIG. 1E

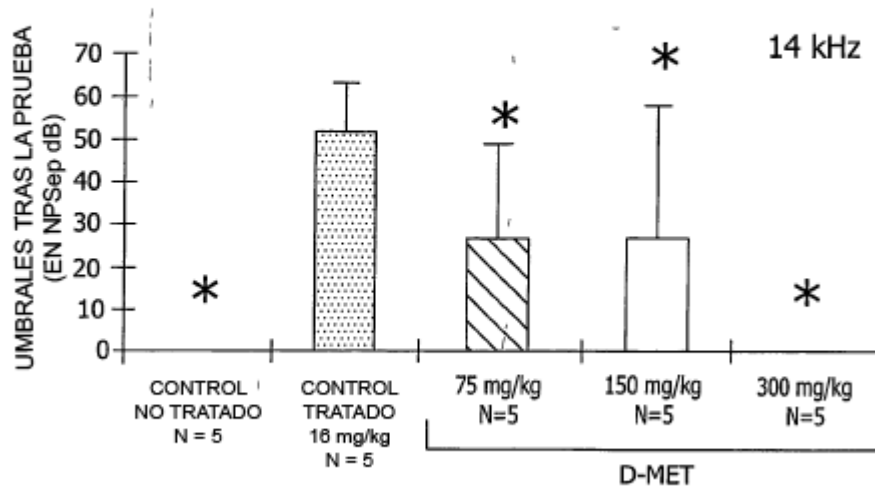




FIG. 2A



FIG. 2B

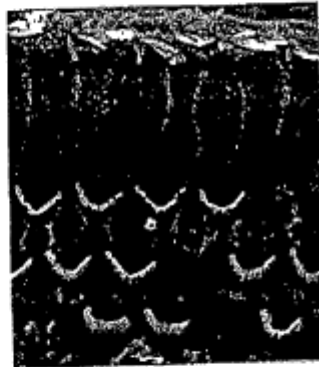


FIG. 2C

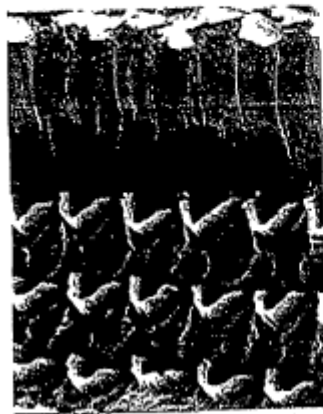


FIG. 2D

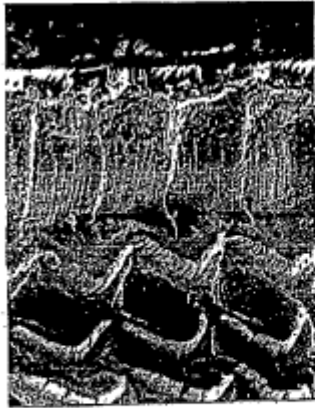


FIG. 2E



FIG. 2F



FIG. 3

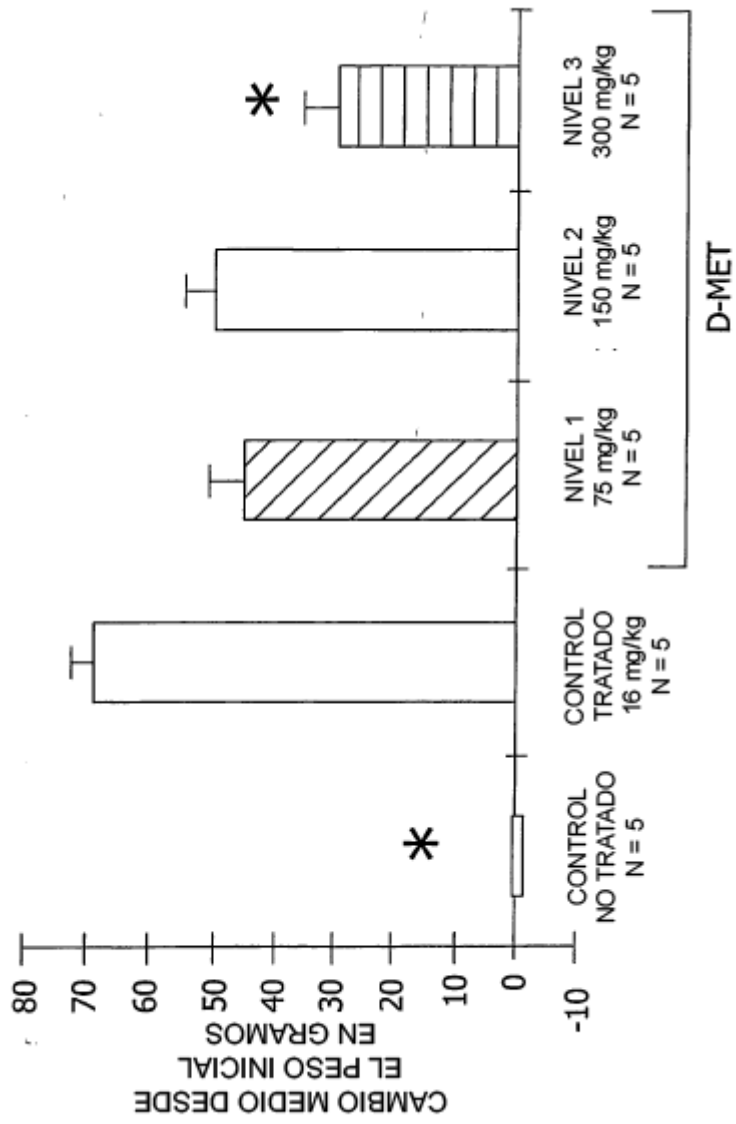


FIG. 4A

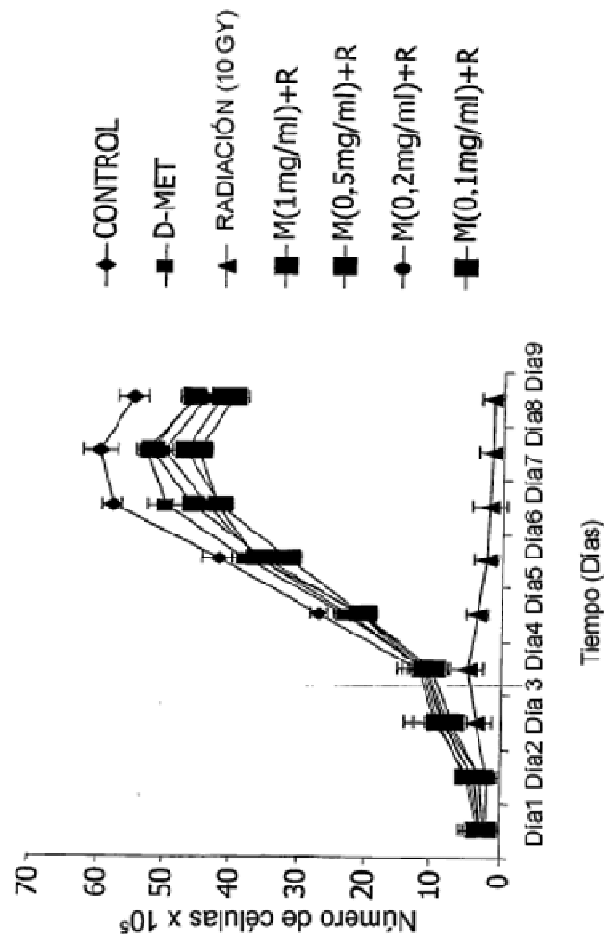
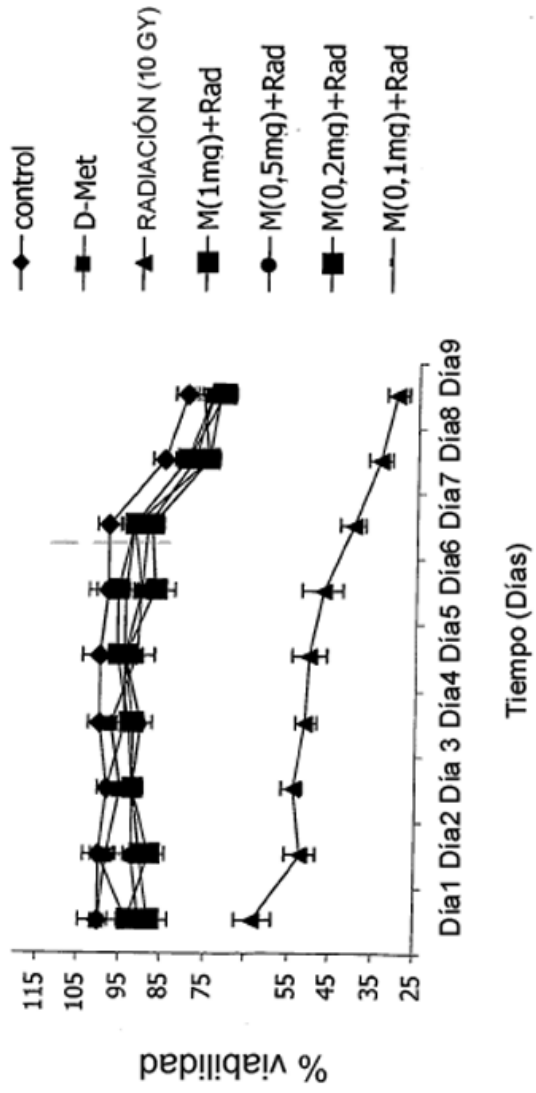


FIG. 4B



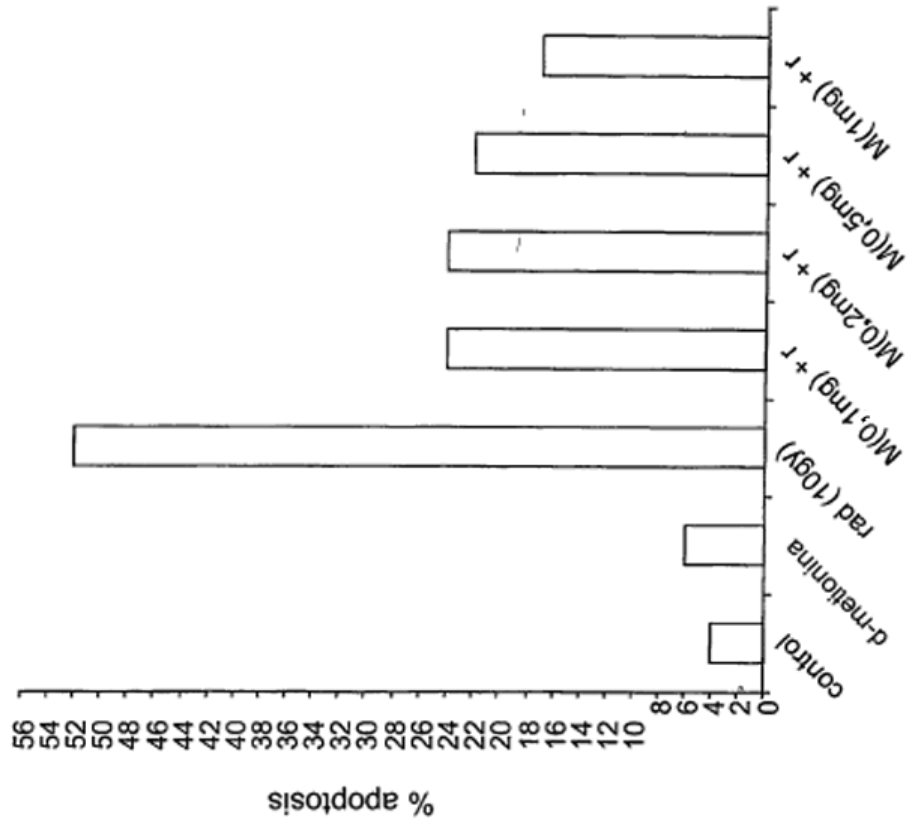


FIG. 5

FIG. 6

