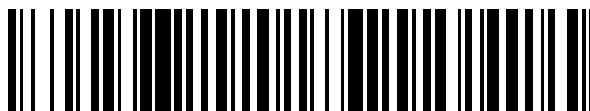


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 425 396**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 38/08 (2006.01)

A61K 31/4188 (2006.01)

A61K 41/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.01.2007 E 07718269 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2013 EP 1973569**

54 Título: **Terapia específica usando ligandos de integrinas para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

18.01.2006 EP 06000988

18.01.2006 EP 06001044

20.01.2006 EP 06006003

31.07.2006 EP 06015883

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.10.2013

73 Titular/es:

MERCK PATENT GMBH (100.0%)

FRANKFURTER STRASSE 250

64293 DARMSTADT, DE

72 Inventor/es:

GOODMAN, SIMON;

PICARD, MARTIN ANDREAS;

MIKKELSEN, TOM;

NIPPGEN, JOHANNES;

GRIMM, ULRIKE;

STUPP, ROGER;

WELLER, MICHAEL;

HARSTRICK, ANDREAS y

GRELL, MATTHIAS

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 425 396 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

Terapia específica usando ligandos de integrinas para el tratamiento del cáncer

Ámbito técnico de la invención:

La invención se refiere a una forma de terapia específica para el tratamiento del astrocitoma que comprende al menos un ligando de integrina, seleccionado entre ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y los solvatos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, junto con el agente antineoplásico coterapéutico temozolomida y radioterapia que tienen eficacia sinérgica cuando se administran junto con dicho ligando de integrina, preferiblemente de forma controlada en el tiempo. La terapia tendrá como consecuencia un posible aumento sinérgico del efecto de inhibición de cada fármaco individual sobre la proliferación de células tumorales y células endoteliales tumorales, produciendo un tratamiento más eficaz que el obtenido mediante la administración de un componente individual solo, combinado o en otro régimen terapéutico, excepto el régimen de la presente invención.

Antecedentes de la invención:

Se sabe que las células endoteliales vasculares contienen al menos tres integrinas dependientes de RGD, entre las que se incluyen los receptores de vitronectina $\alpha_v\beta_3$ o $\alpha_v\beta_5$, así como los receptores de colágeno de tipos I y IV $\alpha_v\beta_1$ y $\alpha_2\beta_1$, los receptores de laminina $\alpha_6\beta_1$ y $\alpha_3\beta_1$ y el receptor de fibronectina $\alpha_5\beta_1$ (Davis y col., 1993, J. Cell. Biochem. 51, 206). Se sabe que las células del músculo liso contienen al menos seis integrinas dependientes de RGD, que incluyen $\alpha_v\beta_3$ y $\alpha_v\beta_5$.

La inhibición de la adhesión celular *in vitro* con anticuerpos monoclonales inmunoespecíficos para diversas subunidades α o β de las integrinas ha implicado al receptor de vitronectina $\alpha_v\beta_3$ en procesos de adhesión celular de diversos tipos celulares como las células endoteliales microvasculares (Davis y col., 1993, J. Cell. Biol. 51, 206).

Las integrinas son una clase de receptores celulares conocidos por unirse a las proteínas de la matriz extracelular y mediar en las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular, denominadas en general acontecimientos de adhesión celular. Los receptores de integrinas constituyen una familia de proteínas con características estructurales compartidas de complejos glucoproteicos heterodiméricos no covalentemente asociados formados por subunidades α y β . El receptor de vitronectina, cuyo nombre se debe a su característica original de unión preferente a vitronectina, ahora se sabe que hace referencia a cuatro integrinas distintas denominadas $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$ y $\alpha_v\beta_8$. La integrina $\alpha_v\beta_1$ se une a fibronectina y a vitronectina, $\alpha_v\beta_3$ se une a una gran variedad de ligandos, como fibrina, fibrinógeno, laminina, trombospondina, vitronectina y factor de von Willebrand y $\alpha_v\beta_5$ se une a vitronectina. Es evidente que existen diferentes integrinas con diferentes funciones biológicas, así como diferentes integrinas y subunidades con especificidad y función biológicas compartidas. Un sitio de reconocimiento importante en un ligando para muchas integrinas es la secuencia tripeptídica Arg-Gly-Asp (RGD). RGD se encuentra en todos los ligandos identificados anteriormente para las integrinas receptoras de vitronectina. Se ha identificado la base molecular del reconocimiento de RGD por $\alpha_v\beta_3$ (Xiong y col., 2001). Este sitio de reconocimiento RGD se puede mimetizar mediante (poli)péptidos lineales y cíclicos que contengan la secuencia RGD. Estos péptidos RGD son conocidos como inhibidores o antagonistas, respectivamente, de la función integrina. Es importante destacar, sin embargo, que dependiendo de la secuencia y estructura del péptido RGD, la especificidad de la inhibición puede verse alterada para dirigirse a integrinas específicas. Se han descrito diversos polipéptidos con RGD con distinta especificidad por integrinas, por ejemplo, en Cheresh, y col., 1989, Cell 58, 945, Aumailley y col., 1991, FEBS Letts. 291, 50, y en numerosas solicitudes de patente y en patentes (p. ej., las patentes de EE. UU. 4.517.686, 4.578.079, 4.589.881, 4.614.517, 4.661.111, 4.792.525 y el documento EP 0770 622).

La generación de nuevos vasos sanguíneos, o angiogénesis, tiene un papel fundamental en el crecimiento de enfermedades malignas, lo que ha generado mucho interés en el desarrollo de fármacos que inhiben la angiogénesis.

No obstante, aunque diversas politerapias que utilizan posibles inhibidores de la angiogénesis están en investigación, en ensayos clínicos y en el mercado, el resultado de estas terapias no es lo suficientemente fructífero. Por tanto, continúa existiendo la necesidad en la técnica de desarrollar más combinaciones que puedan demostrar mayor eficacia y menos efectos secundarios.

Hoy en día se sabe que la vasculatura tumoral es diferente de la vasculatura del tejido sano. La vasculatura es característica del tumor y distinta a la vasculatura estable y latente del tejido sano. A menudo se caracteriza por un aumento en la expresión y sensibilización de moléculas de adhesión celular específicas de la serie de integrinas alfa-v, especialmente $\alpha_v\beta_3$ y $\alpha_v\beta_5$. Cuando estas integrinas se activan potencian la respuesta celular a los factores de crecimiento que dirigen la angiogénesis, por ejemplo, VEGFA y FGF2: VEGFA se denominó originalmente factor de permeabilidad vascular y actúa a través de la ruta de la SRC quinasa aumentando la permeabilidad vascular local. VEGFR2, cuando se activa, aumenta la actividad de la integrina $\alpha_v\beta_3$. Adicionalmente, los tumores sólidos

dependen de una vasculatura inducida y confinada desarrollada a partir del huésped. Esta vasculatura tiene propiedades moleculares inusuales que la distinguen de la vasculatura normal del huésped: tiende a activarse, es decir, progresa por medio del ciclo celular bajo la influencia de factores derivados del tumor, como los VEGF, los FGF y otros factores y expresa marcadores de activación endotelial como ICAM, VCAM e integrinas de las series alfa-v, por ejemplo, $\alpha_v\beta_3$ y $\alpha_v\beta_5$, en un estado competente del ligando. Tiene una matriz extracelular defectuosa y se describe clásicamente como agujereada. Es de destacar que los tumores a menudo resisten a terapias aplicadas sistémicamente a través del torrente circulatorio debido a la naturaleza anómala de la vasculatura tumoral.

El proceso metastásico es un acontecimiento en varias etapas y representa el aspecto más atroz del cáncer. En el momento del diagnóstico, los cánceres están con frecuencia bastante avanzados en su evolución natural y la presencia de metástasis es un acontecimiento común. De hecho, aproximadamente el 30% de los pacientes presenta metástasis detectables en el momento del diagnóstico clínico y otro 30% de los pacientes tiene metástasis ocultas. Las metástasis pueden diseminarse y pueden invadir diferentes órganos al mismo tiempo, o localizarse en un órgano específico. En el caso de enfermedad localizada, el tratamiento de elección es la cirugía; sin embargo, la recurrencia y el pronóstico dependen de muchos criterios como: capacidad de resección, situación clínica del paciente y número de metástasis.

Tras la resección, es frecuente la recurrencia, lo que sugiere que los focos micrometastásicos están presentes en el momento del diagnóstico. La quimioterapia sistémica es un marco ideal pero solo algunos pacientes se curan gracias a ella, fracasando en la mayoría de casos. Muchas barreras fisiológicas y parámetros farmacocinéticos contribuyen a disminuir su eficacia.

El hígado, los pulmones y los ganglios linfáticos son órganos de filtración y, por tanto, predispuestos a la metastatización. La escasa quimiosensibilidad de las metástasis, especialmente las de origen colorrectal, ha inducido a muchos investigadores a utilizar métodos para aumentar el tiempo y la concentración de fármacos. La necesidad de disminuir o limitar los efectos secundarios para este órgano importante y delicado ha llevado al desarrollo de la técnica de aislamiento del hígado para la perfusión de agentes antineoplásicos. (K. R. Aigner, Isolated liver perfusion. En: Morris DL, McArdle CS, Onik GM, eds. Hepatic Metastases. Oxford: Butterworth Heinemann, 1996. 101-107). Desde 1981, se han introducido continuamente modificaciones y mejoras técnicas. Las metástasis hepáticas pueden ser de diferente origen y su quimiosensibilidad puede variar según el tipo histológico y su respuesta en presencia de calor.

Sigue existiendo en la técnica una necesidad creciente de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento sistémico del cáncer, especialmente las metástasis.

Por tanto, el objeto de la presente invención era desarrollar esta nueva estrategia. Debería ser aplicable al tratamiento sistémico y debería reducirse la dosis y/o aumentar la eficacia de los agentes terapéuticos antineoplásicos que se van a aplicar. Un objeto adicional era normalizar la vasculatura tumoral para aumentar la administración de agentes terapéuticos sistémicos del tumor, es decir, restablecer la vasculatura del tumor a la funcionalidad de la vasculatura de tejido no tumoral.

Por tanto, es un objetivo preferido de la presente invención proporcionar un tratamiento más eficaz y mejor tolerado para los pacientes con cáncer que conduzca a una mejora en la supervivencia sin progresión (SSP), la CdV y la mediana de supervivencia.

Breve descripción de los dibujos:

En la figura 1 [solo para información técnica] se muestran los resultados de los experimentos de administración de radioterapia con Cilengitide en el modelo de glioblastoma ortotópico en rata. Los resultados también se muestran en la tabla 1.

En la figura 2 se muestran los resultados de un estudio clínico en glioblastoma (GBM). Los resultados también se muestran en el ejemplo 3.

Resumen de la invención:

El objeto de la presente invención es el uso de al menos un ligando específico de integrinas, seleccionado entre ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y los solvatos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con temozolomida y radioterapia.

Es objeto de la presente invención el uso de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) para el tratamiento del astrocitoma en combinación con temozolomida y radioterapia.

Se descubrió, sorprendentemente, que la vasculatura tumoral puede normalizarse desde un punto de vista funcional aplicando sistémicamente ligandos de integrinas como los que se definen a continuación. Estos inhibidores de las funciones de las integrinas, también denominados ligandos de integrinas en el contexto de la presente invención, aumentan la cantidad de citotóxicos y de otros agentes antineoplásicos coterapéuticos que entran en el tumor.

Además, se ha demostrado que aumenta el número de leucocitos que entran en el tumor tras el tratamiento sistémico con inmunocitoquinas y puede aumentar directamente la cantidad de anticuerpos que entran en el compartimento tumoral durante el tratamiento con anticuerpos antineoplásicos, o aumentar el acceso de las vacunas antineoplásicas.

Aunque no se conoce todavía, existe la posibilidad de que esta normalización funcional de la vasculatura tumoral pueda inducir una concentración de oxígeno mayor en el tumor y hacer que tratamientos dependientes del oxígeno, como la radioterapia de haz externo, sean más eficaces.

El «agente de normalización funcional» se define empíricamente en este documento como un reactivo dirigido a las integrinas alfa-v dentro del compartimento tumoral que aumenta los niveles de fármacos antineoplásicos sistémicos o de bioindicadores específicos de un tratamiento sistémico dentro del tumor. El aumento de fármacos a nivel local supera los mecanismos de resistencia tumoral y mejora el índice terapéutico. Por ejemplo, el agente terapéutico sistémico podría ser un reactivo quimioterapéutico clásico, una inmunocitoquina, una inmunotoxina o una radioinmunoterapia, etc.

En esta nueva forma terapéutica, la característica preferida es que el ligando de integrinas se administra antes del agente antineoplásico coterapéutico adicional. En este contexto, según la presente invención, la radiación o la radioterapia deben entenderse como un agente antineoplásico coterapéutico.

En general, esta aplicación previa se realiza de 1 a 8 horas (h), preferiblemente de 1 a 5 h y, más preferiblemente, de 1 a 3 h antes de la aplicación del agente antineoplásico coterapéutico adicional. Incluso más preferiblemente, esta aplicación previa se realiza de 2 a 8 horas (h), preferiblemente de 2 a 6 h y, más preferiblemente, de 2 a 4 h antes de la aplicación del agente antineoplásico coterapéutico adicional, como de 1 a 2 h, de 2 a 3 h, de 3 a 6 h, de 2 a 5 h o de 3 a 7 h antes de la aplicación del agente antineoplásico adicional. Con respecto a la invención, esta aplicación o administración previa también se denomina «administración programada» o «aplicación programada».

Como muestran los datos contenidos en esta solicitud, el efecto según la invención se consigue en animales no humanos, especialmente en ratas, si esta aplicación previa se realiza preferiblemente de 1 a 8 horas (h), preferiblemente de 1 a 5 h y, más preferiblemente de 1 a 3 h antes de la aplicación del agente antineoplásico coterapéutico adicional; e incluso más preferiblemente, esta aplicación previa se realiza de 2 a 8 horas (h), preferiblemente de 2 a 6 h y, más preferiblemente, de 2 a 4 h antes de la aplicación del agente antineoplásico coterapéutico adicional, como de 1 a 2 h, de 2 a 3 h, de 3 a 6 h, de 2 a 5 h o de 3 a 7 h antes de la aplicación del agente antineoplásico adicional. Con respecto a la invención, esta aplicación o administración previa también se denomina «administración programada» o «aplicación programada».

Sin embargo, los datos de los experimentos en humanos preferiblemente muestran que el momento de la «aplicación previa» descrito y discutido previa y posteriormente puede retrasarse o multiplicarse por el factor de 1 a 4 y, especialmente, de 2 a 4. Esta diferencia en la respuesta o el tiempo de respuesta entre animales no humanos, especialmente roedores, como ratas, y en humanos es conocida y se ha discutido extensamente en la técnica. Aunque el solicitante no desea estar ligado por esta teoría, los autores consideran que esta diferencia se debe, al menos en parte, a la diferencia de comportamiento farmacocinético de las diferentes especies, lo que, por ejemplo, se refleja en semividas diferentes ($t_{1/2}$) en los diferentes tipos de animales. Por ejemplo, en el caso de compuestos como los ciclopéptidos, las semividas en ratas normalmente están en el intervalo de 10-30 minutos, mientras que las semividas en humanos para los mismos compuestos están en 2 a 6 horas y, especialmente, 3 a 4 horas.

Por consiguiente, un objeto de esta solicitud es un método de tratamiento y/o fabricación según se describe anteriormente o a continuación en el que la aplicación previa se produce preferiblemente de 1 a 32 horas (h), preferiblemente de 2 a 32 h, más preferiblemente de 2 a 24 h, incluso más preferiblemente de 4 a 24 h, incluso más preferiblemente de 6 a 20 h y especialmente de 6 a 16 h, antes de la aplicación del agente antineoplásico coterapéutico adicional; o alternatively, es preferible que esta aplicación previa se produzca de 6 a 32 horas (h), preferiblemente de 10 a 24 h y, más preferiblemente de 12 a 20 h antes de la aplicación del agente antineoplásico coterapéutico adicional. Con respecto a la invención, esta aplicación o administración previa también se denomina «administración programada» o «aplicación programada».

Un objeto adicional de esta solicitud es un método de tratamiento y/o un método de fabricación según se describe anteriormente o a continuación en el que la aplicación previa se produce preferiblemente de 18 a 23 horas (h), preferiblemente de 20 a 23 h, más preferiblemente de 20 a 22 h antes de la aplicación del agente antineoplásico coterapéutico adicional; o alternatively, es preferible que esta aplicación previa se produzca de 25 a 32 horas (h), preferiblemente de 25 a 30 h y, más preferiblemente de 26 a 30 h antes de la aplicación del agente

antineoplásico coterapéutico adicional. Con respecto a la invención, esta aplicación o administración previa también se denomina «administración programada» o «aplicación programada».

Sin embargo, en un aspecto más preferido de la presente invención, la administración programada (independientemente de si el paciente es humano o no) del ligando específico de integrinas se produce de 1 a 10 horas (h), preferiblemente de 2 a 8 h, más preferiblemente de 2 a 6 h, incluso más preferiblemente de 3 a 8 h, incluso más preferiblemente de 3 a 6 h y, especialmente, de 4 a 8 h antes de la aplicación de uno o más agentes antineoplásicos coterapéuticos, por ejemplo, de 1 a 2 h, de 1 a 3 h, de 1 a 4 h, de 2 a 3 h, de 2 a 4 h, de 2 a 6 h, de 2 a 8 h, de 2 a 10 h, de 3 a 4 h, de 3 a 10 h, de 4 a 6 h, de 4 a 10 h, de 5 a 8 o de 5 a 10 h. Esto se prefiere especialmente si uno o más agentes antineoplásicos coterapéuticos comprenden radiación de haz externo o consisten en radiación de haz externo. Con respecto a la invención, esta aplicación o administración previa también se denomina «administración programada» o «aplicación programada».

Con respecto a dicha administración programada o aplicación programada (del ligando específico de integrinas), las horas proporcionadas para dicha administración o aplicación previa preferiblemente se refieren al comienzo o inicio de la respectiva administración o aplicación. Por consiguiente, por ejemplo, la administración del ligando específico de integrinas que se inicia tres horas antes de la aplicación del respectivo agente antineoplásico coterapéutico se contempla como una administración programada o aplicación programada 3 h antes de la aplicación de uno o más agentes antineoplásicos coterapéuticos según la presente invención, incluso si el ligando específico de integrinas se administra mediante infusión i.v. de una o dos horas de duración. Esta definición de aplicación previa/administración previa está perfectamente de acuerdo con el conocimiento de los expertos en la materia.

Si al menos uno de los ligandos específicos de integrinas se administra al paciente según una administración programada como se describe en este documento, esta se programa preferiblemente con respecto al único o los varios agentes antineoplásicos coterapéuticos con los que se combina. Con respecto a la administración programada del ligando específico de integrinas en combinación con dos o más agentes antineoplásicos coterapéuticos, esta se programa preferiblemente con respecto a los dos o más agentes antineoplásicos coterapéuticos, más preferiblemente, se programa con respecto a al menos uno de los agentes antineoplásicos coterapéuticos. Si entre el único o los varios agentes antineoplásicos coterapéuticos se incluye la radioterapia, especialmente la radioterapia como se describe en este documento, la administración programada se refiere preferiblemente al menos a la radioterapia.

En especial preferiblemente, la administración programada del ligando específico de integrinas se refiere a radioterapia como el agente antineoplásico coterapéutico relevante para el tiempo. Por consiguiente, en la administración programada, la administración previa del ligando específico de integrinas preferiblemente se refiere a un tiempo previo a la administración de la radioterapia. Sin embargo, en muchos casos, también puede ser ventajoso administrar el único o los varios agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales distintos de la radioterapia en el margen de tiempo dado por la administración programada del ligando específico de integrinas y la administración o aplicación de la radioterapia.

Con respecto a la administración programada de al menos un ligando específico de integrinas, seleccionado a partir del grupo compuesto por ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y los agentes neoplásicos coterapéuticos temozolomida y radioterapia, la administración programada de al menos un ligando específico de integrinas preferiblemente se refiere a la administración o suministro de la radioterapia y, más preferiblemente a la administración o suministro de radioterapia y la administración de la temozolomida.

Más preferiblemente, la administración programada del ligando específico de integrinas hace referencia a la administración del ligando específico de integrinas y la radioterapia, y el agente antineoplásico coterapéutico adicional temozolomida se administra preferiblemente tras la administración del ligando específico de integrinas, como de 1 a 2, o de 1 a 3 horas después de la administración de este ligando específico de integrinas, aunque preferiblemente antes de la administración o aplicación de la radioterapia, preferiblemente al menos en la hora previa a la administración o aplicación de la radioterapia y, más preferiblemente, al menos 1 hora antes de la radioterapia, por ejemplo, de 1 a 2 o de 1 a 3 h antes de la administración o aplicación de la radioterapia.

Si se administran dos o más ligandos específicos de integrinas en una administración programada como se describe en este documento, la administración programada hace referencia preferiblemente a al menos uno de los ligandos específicos de integrinas y, más preferiblemente, a los dos o más ligandos específicos de integrinas que se van a administrar en la administración programada como se describe en este documento.

Debe entenderse que la administración de cualquier combinación para su uso según la presente invención va acompañada de radioterapia, en la que el tratamiento de radiación puede realizarse preferiblemente tras la administración del ligando de integrinas. Opcionalmente, la administración de los diferentes agentes de la politerapia también puede realizarse sustancialmente de forma concurrente o secuencial.

Se sabe que los tumores muestran vías alternativas para su desarrollo y crecimiento. Si una vía está bloqueada, a menudo, tienen la capacidad de cambiar a otra vía expresando y usando otros receptores y vías de señalización. Por tanto, las combinaciones farmacéuticas para su uso según la presente invención pueden bloquear varias de estas posibles estrategias de desarrollo del tumor y proporcionar en consecuencia diversos beneficios terapéuticos.

5 Las combinaciones para su uso según la presente invención se usan en el tratamiento y prevención del astrocitoma.

Preferiblemente, los diferentes agentes combinados para su uso según la presente invención se administran a una dosis baja, es decir, a una dosis inferior a la que se ha utilizado convencionalmente en situaciones clínicas. Entre los beneficios de la disminución de la dosis de los compuestos, composiciones, agentes y terapias administrados a un individuo se incluye la disminución de la incidencia de efectos adversos asociados con dosis más elevadas. Por ejemplo, reduciendo las dosis de uno de los agentes descritos anteriormente y a continuación se producirá una reducción en la frecuencia y en la intensidad de las náuseas y vómitos en comparación con lo observado a dosis más elevadas. Reduciendo la incidencia de efectos adversos, se prevé una mejora en la calidad de vida del paciente con cáncer. Entre los beneficios adicionales de la reducción de la incidencia de efectos adversos se incluyen una mejora en el cumplimiento terapéutico del paciente, una reducción en el número de hospitalizaciones necesarias para el tratamiento de los efectos adversos y una reducción en la administración de fármacos analgésicos necesarios para tratar el dolor asociado con los efectos adversos. Alternativamente, los métodos y la combinación también pueden maximizar el efecto terapéutico a dosis más elevadas.

Las combinaciones dentro del tratamiento farmacéutico para su uso según la presente invención muestran un efecto sinérgico asombroso. Administrando la combinación de fármacos, pudo observarse la retracción y desintegración real del tumor durante los estudios clínicos, mientras que no se detectaron reacciones adversas significativas al fármaco.

Las combinaciones farmacéuticas para su uso según la presente invención proporcionan diversos beneficios. Las combinaciones para su uso según la presente invención se usan en el tratamiento y prevención del astrocitoma. Preferiblemente, los diferentes agentes combinados para su uso según la presente invención se administran en combinación a una dosis baja, es decir, a una dosis inferior a la que se ha utilizado convencionalmente en situaciones clínicas. Entre los beneficios de la disminución de la dosis de los compuestos, composiciones, agentes y terapias administradas a un mamífero se incluye una disminución de la incidencia de efectos adversos asociados con dosis más elevadas. Por ejemplo, reduciendo las dosis de uno de los agentes quimioterapéuticos, como metotrexato, doxorubicina, gemcitabina, docetaxel, paclitaxel, bleomicina, cisplatino y/o melfalán, se producirá una reducción en la frecuencia e intensidad de las náuseas y vómitos en comparación con lo observado a dosis más elevadas. Se contemplan beneficios similares para los compuestos, composiciones, agentes y terapias junto con el antagonista de integrinas para su uso según la presente invención. Reduciendo la incidencia de efectos adversos, se contempla una mejora en la calidad de vida del paciente con cáncer. Entre los beneficios adicionales de reducir la incidencia de efectos adversos se incluyen una mejora en el cumplimiento por parte del paciente, una reducción en el número de hospitalizaciones necesarias para el tratamiento de los efectos adversos y una reducción en la administración de agentes analgésicos necesarios para tratar el dolor asociado con los efectos adversos.

Alternativamente, los métodos y la combinación también pueden maximizar el efecto terapéutico a dosis más elevadas.

Descripción detallada de la invención

Si no se indica lo contrario, los términos y las expresiones utilizados en esta invención tienen preferiblemente los significados y definiciones que se proporcionan a continuación. Además, estas definiciones y significados describen la invención con más detalle, incluyendo las realizaciones preferidas.

Si no se indica lo contrario, la referencia a un compuesto para su uso según la invención incluye preferiblemente la referencia a los solvatos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo. Si no se indica lo contrario, la referencia a los ligandos de integrinas, antagonistas de integrinas, agonistas de integrinas, así como la referencia a los agentes antineoplásicos coterapéuticos que son compuestos, incluye preferiblemente los solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Incluso más preferiblemente, la referencia al ligando de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) también incluye los solvatos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y, especialmente preferido, las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, sino se indica lo contrario.

Por «politerapia» se entiende preferiblemente una combinación de al menos dos formas diferentes de terapia que se combinan para formar un único concepto terapéutico de forma consecutiva y controlada en el tiempo.

En una realización preferida de la presente invención esto significa la combinación del ligando específico de integrinas con el agente coterapéutico adicional temozolomida. Es importante señalar que «politerapia» preferiblemente no significa una composición o medicamento farmacéutico distinto y/o individual. A modo de

contraste, en una realización preferida de la presente invención, el ligando de integrinas y el agente coterapéutico adicional temozolomida se proporcionan en recipientes, envases, medicamentos, formulaciones o equivalentes independientes. Del mismo modo, la combinación del tratamiento con el ligando de integrinas con la radioterapia preferiblemente entra dentro del significado de «politerapia» de la presente invención.

- 5 Preferiblemente, «formas de terapia» es cualquier medio, uso y/o formulación para tratar el cáncer conocidos en la técnica. Por tanto, mediante el término «formas de terapia distintas» se entiende que se combinan dos medios, usos y/o formulaciones diferentes para el tratamiento del astrocitoma. En el contexto de la presente invención se prefiere que la primera forma de terapia aplicada tenga actividad anti-integrina (sinónimo: ligando de integrina) y se aplique antes de la segunda forma de terapia, preferiblemente siguiendo el programa como se ha detallado
10 anteriormente.

El término «composición que comprende radioterapia» preferiblemente significa simplemente que tras el ligando de integrinas se aplica radioterapia. Por tanto, el término «composición que comprende radioterapia» en el contexto de la presente invención preferiblemente no se aplica a una composición farmacéutica como tal, sino a una composición farmacéutica que se utilizará en combinación con radioterapia.

- 15 Con «agente antineoplásico coterapéutico» o «agente coterapéutico» preferiblemente se entiende un agente citotóxico, quimioterapéutico o inmunotóxico. La radioterapia es igualmente preferida.

- Un «receptor» o «molécula receptora» es preferiblemente una proteína o glucoproteína soluble o unida a membrana o asociada a membrana que comprende uno o más dominios a los que se une un ligando para formar un complejo receptor-ligando. Al unirse el ligando, que puede ser un agonista o un antagonista, el receptor se activa o inactiva y
20 puede iniciar o bloquear una ruta de señalización.

Por «ligando» o «ligando del receptor» se entiende preferiblemente un compuesto natural o sintético que se une a una molécula receptora para formar un complejo receptor-ligando. El término ligando incluye agonistas, antagonistas y compuestos con actividad agonista/antagonista parcial.

- Un «agonista» o «agonista del receptor» es preferiblemente un compuesto natural o sintético que se une al receptor para formar un complejo receptor-agonista activando dicho receptor y complejo receptor-agonista, respectivamente, iniciando una vía de señalización y procesos biológicos adicionales.

- Por «antagonista» o «antagonista del receptor» se entiende preferiblemente un compuesto natural o sintético que tiene un efecto biológico opuesto al de un agonista. Un antagonista se une al receptor y bloquea la acción de un agonista del receptor compitiendo con el agonista por el receptor. Un antagonista se define por su capacidad para
30 bloquear las acciones de un agonista. Un antagonista del receptor puede ser también un anticuerpo o un fragmento inmunoterapéuticamente eficaz del mismo. Los antagonistas preferidos según la presente invención se citan y discuten más adelante.

- El término «antagonistas/inhibidores de integrinas» o «antagonistas/inhibidores de receptores de integrinas» preferiblemente se refiere a una molécula natural o sintética, preferiblemente una molécula sintética, que bloquea e
35 inhibe un receptor de integrinas. En algunos casos, el término incluye antagonistas dirigidos a los ligandos de dichos receptores de integrinas (como para $\alpha_v\beta_3$: vitronectina, fibrina, fibrinógeno, factor de von Willebrand, trombospondina y laminina; para $\alpha_v\beta_5$: vitronectina; para $\alpha_v\beta_1$: fibronectina y vitronectina; para $\alpha_v\beta_6$: fibronectina). Los antagonistas de (receptores de) integrinas pueden ser péptidos naturales o sintéticos, moléculas no peptídicas, peptidomiméticas, inmunoglobulinas, como anticuerpos o fragmentos funcionales de los mismos, o
40 inmunoconjugados (proteínas de fusión). Los inhibidores de integrinas se dirigen al receptor de integrinas α_v (p. ej., $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$ y subclases). Los inhibidores de integrinas son antagonistas de α_v y, en particular, antagonistas de $\alpha_v\beta_3$. Los antagonistas de α_v son péptidos RGD, antagonistas peptidomiméticos (no peptídicos) y anticuerpos anti-receptor de integrinas como anticuerpos que bloquean receptores α_v .

- Como ejemplo, se describen antagonistas de $\alpha_v\beta_3$ no inmunológicos en las explicaciones de los documentos
45 US 5.753.230 y US 5.766.591. Los antagonistas son péptidos lineales y cíclicos que contienen RGD. Los péptidos cíclicos, por norma, son más estables y muestran una semivida en suero potenciada. Sin embargo, el antagonista de integrinas para su uso según la invención es ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) (EMD 121974, Cilengitide®, Merck KGaA, Alemania; documento EP 0770 622) que bloquea de forma eficaz los receptores de integrinas $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_v\beta_8$ y $\alpha_{IIb}\beta_3$ y preferiblemente es especialmente eficaz con respecto a los receptores de integrinas $\alpha_v\beta_3$ y/o $\alpha_v\beta_5$. Como es evidente para los expertos en la materia, el ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) puede aplicarse
50 también en el contexto de la presente invención en forma de un solvato y/o sal fisiológicamente aceptable del mismo. Esto también se aplica preferiblemente a los demás compuestos o principios activos usados en el contexto de la presente invención.

Se han descrito antagonistas peptídico, así como peptidomiméticos (no peptídicos) de los receptores de integrinas $\alpha_v\beta_3$ / $\alpha_v\beta_5$ / $\alpha_v\beta_6$ tanto en la literatura científica como de patentes. Por ejemplo, se hace referencia a Hoekstra y Poulter, 1998, Curr. Med. Chem. 5, 195; documentos WO 95/32710; WO 95/37655; WO 97/01540; WO 97/37655; WO 97/45137; WO 97/41844; WO 98/08840; WO 98/18460; WO 98/18461; WO 98/25892; WO 98/31359; WO 98/30542; WO 99/15506; WO 99/15507; WO 99/31061; WO 00/06169; EP 0853 084; EP 0854 140; EP 0854 145; US 5.780.426 y US 6.048.861. Entre las patentes en las que se describen benzacepinas, así como antagonistas de receptores de integrina $\alpha_v\beta_3$ benzodiazepinas y benzocicloheptenos se incluyen WO 96/00574, WO 96/00730, WO 96/06087, WO 96/26190, WO 97/24119, WO 97/24122, WO 97/24124, WO 98/15278, WO 99/05107, WO 99/06049, WO 99/15170, WO 99/15178, WO 97/34865, WO 97/01540, WO 98/30542, WO 99/11626, y WO 99/15508. Otros antagonistas de receptores de integrinas que presentan restricciones anulares conformacionales de esqueleto se describen en los documentos WO 98/08840; WO 99/30709; WO 99/30713; WO 99/31099; WO 00/09503; US 5.919.792; US 5.925.655; US 5.981.546 y US 6.017.926. En los documentos US 6.048.861 y WO 00/72801 se describe una serie de derivados de ácido nonanoico que son potentes antagonistas del receptor de integrinas $\alpha_v\beta_3$. Otras moléculas químicas pequeñas antagonistas de integrinas (principalmente antagonistas de vitronectina) se describen en el documento WO 00/38665. Se ha demostrado que los antagonistas de receptores $\alpha_v\beta_3$ son inhibidores eficaces de la angiogénesis. Por ejemplo, se han probado antagonistas de receptor sintéticos como el ácido (S)-10,11-dihidro-3-[3-(piridin-2-ilamino)-1-propiloxi]-5H-dibenzo[a,d]ciclohepten-10-acético (conocido como SB-265123) en diversos sistemas de modelos de mamíferos (Keenan y col., 1998, Bioorg. Med. Chem. Lett. 8(22), 3171; Ward y col., 1999, Drug Metab. Dispos. 27(11), 1232). Los ensayos para la identificación de antagonistas de integrinas adecuados para su uso como antagonistas se describen, por ejemplo, en Smith y col., 1990, J. Biol. Chem. 265, 12267 y en la literatura de patentes referenciada. También se conocen anticuerpos contra el receptor de integrina. Los anticuerpos monoclonales anti-integrinas (p. ej. $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$ y $\alpha_v\beta_6$) adecuados pueden modificarse para abarcar fragmentos de unión al antígeno del mismo, incluyendo F(ab)₂, Fab y Fv o anticuerpo de cadena sencilla obtenidos por ingeniería genética. Un anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor de integrina $\alpha_v\beta_3$ se identifica como LM609 (Brooks y col., 1994, Cell 79, 1157, ATCC HB 9537). En el documento WO 97/45447 se describe un potente anticuerpo específico anti- $\alpha_v\beta_5$. Otro anticuerpo selectivo frente a $\alpha_v\beta_6$ es el AcM 14D9.F8 (documentos WO 99/37683 y DSM ACC2331, Merck KGaA, Alemania) que se dirige selectivamente a la cadena α_v de los receptores de integrinas. Otro anticuerpo anti-integrina es el comercializado Vitroxin®. El término «anticuerpo» o «inmunoglobulina» en este documento se utiliza preferiblemente en el sentido más amplio y abarca específicamente anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (p. ej., anticuerpos biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos y fragmentos de anticuerpo, siempre que muestren la actividad biológica deseada. El término generalmente incluye heteroanticuerpos que están compuestos por dos o más anticuerpos o fragmentos de los mismos de especificidad de unión diferente que están unidos entre ellos.

Dependiendo de la secuencia de aminoácidos de sus regiones constantes, pueden asignarse anticuerpos intactos a diferentes «clases de anticuerpos (inmunoglobulinas)». Existen cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y algunas de estas pueden dividirse además en «subclases» (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Los dominios constantes de la cadena pesada que se corresponden con las diferentes clases de anticuerpos se denominan α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. La clase principal preferida de anticuerpos según la invención es IgG, más en particular IgG1 e IgG2.

Los anticuerpos son generalmente glucoproteínas que tienen un peso molecular de aproximadamente 150.000 compuestas por dos cadenas ligeras idénticas (L) y dos cadenas pesadas idénticas (H). Cada cadena ligera está unida a una cadena pesada mediante un enlace covalente disulfuro, aunque el número de enlaces disulfuro varía entre las cadenas pesadas de diferentes isotipos de inmunoglobulinas. Cada cadena pesada y ligera también tiene puentes disulfuro intracatenarios espaciados de forma regular. Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (VH) seguido de varios dominios constantes. Las regiones variables contienen regiones hipervariables o regiones «CDR» que contienen el sitio de unión al antígeno y son responsables de la especificidad del anticuerpo, y las regiones «FR», que son importantes con respecto a la afinidad / aidez del anticuerpo. La región hipervariable comprende generalmente restos de aminoácidos de una «región determinante de complementariedad» o «CDR» (p. ej., restos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en el dominio variable de la cadena ligera y 31-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en el dominio variable de la cadena pesada; y/o aquellos restos de una «región hipervariable» (p. ej., restos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en el dominio variable de la cadena ligera y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) en el dominio variable de la cadena pesada; Chothia y Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Los restos «FR» (región estructural) son los restos del dominio variable distintos de los restos de la región hipervariable como se define en este documento. Cada cadena ligera tiene un dominio variable en un extremo (VL) y un dominio constante en su otro extremo. El dominio constante de la cadena ligera está alineado con el primer dominio constante de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena ligera está alineado con el dominio variable de la cadena pesada. Se considera que determinados restos de aminoácidos forman una interfaz entre los dominios variables de la cadena ligera y los de la cadena pesada. Las «cadenas ligeras» de los anticuerpos de cualquier especie de vertebrado pueden asignarse a uno de los dos tipos claramente distintos, denominados kappa (κ) y lambda (λ), en base a las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes.

Según se usa en este documento, el término «anticuerpo monoclonal» se refiere a un anticuerpo obtenido preferiblemente a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, es decir, los anticuerpos individuales que componen la población son idénticos excepto por posibles mutaciones naturales que pueden presentarse en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos ya que están dirigidos frente a un único sitio antigénico. Además, a diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales que incluyen diferentes anticuerpos dirigidos frente a determinantes (epítopes) diferentes, cada anticuerpo monoclonal está dirigido frente a un único determinante del antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos porque pueden sintetizarse sin contaminación de otros anticuerpos. Entre los métodos de preparación de anticuerpos monoclonales se incluyen el método de hibridomas descrito por Kohler y Milstein (1975, *Nature* 256, 495) y en «Monoclonal Antibody Technology, The Production and Characterization of Rodent and Human Hybridomas» (1985, Burdon y col., Eds, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Volumen 13, Elsevier Science Publishers, Amsterdam) o pueden obtenerse mediante métodos de ADN recombinante bien conocidos (véase, p. ej., el documento US 4.816.567). Los anticuerpos monoclonales también pueden aislarse a partir de bibliotecas de anticuerpos contra bacteriófagos usando las técnicas descritas, por ejemplo, en Clackson y col.; *Nature*, 352:624-628 (1991) y Marks y col., *J. Mol. Biol.*, 222:58, 1-597 (1991).

El término «anticuerpo quimérico» significa preferiblemente anticuerpos en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie en particular o perteneciente a una clase o subclase de anticuerpo en particular, mientras que el resto de las cadenas es idéntico u homólogo a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpo, así como a fragmentos de estos anticuerpos, siempre que muestren la actividad biológica deseada (p. ej., documento US 4.816.567 y Morrison y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). Los métodos para obtener anticuerpos quiméricos y humanizados son también conocidos en la técnica. Por ejemplo, entre los métodos para obtener anticuerpos quiméricos se incluyen los descritos en las patentes de Boss (Celltech) y Cabilly (Genentech) (documentos US 4.816.397 y US 4.816.567).

Los «anticuerpos humanizados» preferiblemente son formas de anticuerpos quiméricos no humanos (p. ej., de roedores) que contienen una secuencia mínima derivada de una inmunoglobulina no humana. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que restos de una región hipervariable (CDR) del receptor se sustituyen por restos de una región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante), como ratón, rata, conejo o primate no humano, que tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunas circunstancias, los restos de la región estructural (FR) de la inmunoglobulina humana se sustituyen por los restos no humanos correspondientes. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender restos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se hacen para obtener un anticuerpo más refinado. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente al menos uno, y generalmente dos, dominios variables completos, en los que todos, o sustancialmente todos, los lazos hipervariables se corresponden con los de una inmunoglobulina no humana y todos, o sustancialmente todos, los FR son los de una secuencia de inmunoglobulina humana. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado también comprenderá al menos una porción de una región constante (Fc) de la inmunoglobulina, normalmente la de una inmunoglobulina humana. Los métodos para la obtención de anticuerpos humanizados son descritos, por ejemplo, por Winter (documento US 5.225.539) y Boss (Celltech, documento US 4.816.397).

Los «fragmentos de anticuerpo» preferiblemente comprenden una porción de un anticuerpo intacto, comprendiendo preferiblemente la región de unión a antígeno o la región variable del mismo. Entre los ejemplos de fragmentos de anticuerpo se incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fv y Fc, danticuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de cadena sencilla y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos. Un anticuerpo «intacto» es aquel que comprende una región variable de unión a antígeno, así como un dominio constante de la cadena ligera (CL) y dominios constantes de la cadena pesada CH1, CH2 y CH3. Preferiblemente, el anticuerpo intacto tiene una o más funciones efectoras. La digestión con papaína de los anticuerpos produce dos fragmentos de unión a antígeno idénticos, denominados fragmentos «Fab», que comprende cada uno un único sitio de unión a antígeno y una región CL, otra CH1 y un fragmento «Fc» residual, cuyo nombre refleja su capacidad para cristalizar fácilmente. La región «Fc» de los anticuerpos comprende, por norma, las regiones CH2, CH3 y la región bisagra de una clase principal de anticuerpo IgG1 o IgG2. La región bisagra es un grupo de aproximadamente 15 restos de aminoácidos que unen la región CH1 con la región CH2-CH3. El tratamiento con pepsina produce un fragmento «F(ab')₂» que tiene dos sitios de unión a antígeno y sigue siendo capaz de entrecruzarse con el antígeno. «Fv» es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio completo de reconocimiento de antígeno y de unión al antígeno. Esta región consta de un dímero de una cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera en asociación estrecha no covalente. Esta es la configuración en la que las tres regiones hipervariables (CDR) de cada dominio variable interaccionan para definir un sitio de unión al antígeno sobre la superficie del dímero VH – VL. Colectivamente, las seis regiones hipervariables confieren al anticuerpo especificidad de unión al antígeno. Sin embargo, incluso un dominio variable único (o la mitad de un Fv que comprende solo tres regiones hipervariables específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse a un antígeno, aunque con una afinidad inferior a la del sitio de unión completo. El fragmento **Fab** también contiene el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (CH1) de la cadena pesada. Los fragmentos

«Fab'» difieren de los fragmentos Fab en la adición de algunos restos en el extremo carboxilo terminal del dominio CH1 de la cadena pesada incluyendo una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Los fragmentos de anticuerpo F(ab')₂ se obtuvieron originalmente como pares de fragmentos Fab' que tenían cisteínas bisagra entre ellos. También se conocen otros métodos de conjugación química de fragmentos de anticuerpo (véase, p. ej., Hermanson, Bioconjugate Techniques, Academic Press, 1996; documento US 4.342.566). Los fragmentos de anticuerpo «Fv de cadena sencilla» o «scFv» comprenden preferiblemente los dominios V y V del anticuerpo, donde estos dominios se presentan en una única cadena polipeptídica. Preferiblemente, el polipéptido Fv comprende además un enlazador polipeptídico entre los dominios VH y VL que permiten al scFv formar la estructura deseada para la unión al antígeno. Para una revisión de los anticuerpos FV de cadena sencilla, véase Plückthun *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg y Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, pág. 269-315 (1994), documentos WO93/16185, US 5.571.894, US 5.587.458; Huston y col. (1988, Proc. Natl. Acad. Sci. 85, 5879) o Skerra y Plueckthun (1988, Science 240, 1038).

Los «anticuerpos biespecíficos» son preferiblemente anticuerpos divalentes sencillos (o fragmentos inmunoterapéuticamente eficaces de los mismos) que tienen dos sitios de unión al antígeno con especificidad diferente. Por ejemplo, el primer sitio de unión al antígeno está dirigido a un receptor de angiogénesis (p. ej., receptor de integrina o VEGF), mientras que el segundo sitio de unión al antígeno está dirigido a un receptor ErbB (p. ej., EGFR o Her2). Los anticuerpos biespecíficos pueden producirse mediante técnicas químicas (véase, p. ej., Kranz y col. (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 5807), mediante técnicas de «polidoma» (véase el documento US 4.474.893) o mediante técnicas de ADN recombinante que son todas bien conocidas por sí mismas. En los documentos WO 91/00360, WO 92/05793 y WO 96/04305 se describen otros métodos. También pueden prepararse anticuerpos biespecíficos a partir de anticuerpos de cadena sencilla (véase, p. ej., Huston y col. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85, 5879; Skerra y Plueckthun (1988) Science 240, 1038). Estos son análogos de regiones variables de anticuerpo producidas como una cadena polipeptídica sencilla. Para formar el agente de unión biespecífico, los anticuerpos de cadena sencilla pueden unirse químicamente o mediante métodos de ingeniería genética conocidos en la técnica. También es posible obtener anticuerpos biespecíficos según esta invención usando secuencias cremallera de leucina. Las secuencias empleadas derivan de las regiones cremallera de leucinas de los factores de transcripción Fos y Jun (Landschulz y col., 1988, Science 240, 1759; para una revisión, véase Maniatis y Abel, 1989, Nature 341, 24). Las cremalleras de leucina son secuencias de aminoácidos específicas con una longitud de aproximadamente 20-40 restos con una leucina normalmente cada siete restos. Estas secuencias cremallera forman hélices α anfipáticas con los restos de leucina alineados en el lado hidrófobo para la formación de dímeros. Los péptidos que se corresponden con las cremalleras de leucinas de las proteínas Fos y Jun forman preferiblemente heterodímeros (O'Shea y col., 1989, Science 245, 646). Los anticuerpos biespecíficos que contienen cremalleras y los métodos para su obtención también se describen en los documentos WO 92/10209 y WO 93/11162. Un anticuerpo biespecífico según la invención puede ser un anticuerpo, dirigido frente al receptor de VEGF y el receptor de $\alpha_v\beta_3$ como se describió anteriormente con respecto a los anticuerpos que tienen una única especificidad.

Los «heteroanticuerpos» preferiblemente son dos o más anticuerpos o fragmentos de unión a anticuerpo que están unidos entre ellos, presentando cada uno de ellos una especificidad de unión diferente. Los heteroanticuerpos pueden prepararse conjugando dos o más anticuerpos o fragmentos de anticuerpos. Los heteroanticuerpos preferidos están compuestos por fragmentos Fab/Fab' entrecruzados. Pueden usarse diversos agentes de conjugación o entrecruzamiento para conjugar los anticuerpos. Entre los ejemplos se encuentran la proteína A, carboimida, N-succinimidil-S-acetil-tioacetato (SATA) y N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (SPDP) (véase p. ej., Karpovsky y col. (1984) J. Exp. Med. 160,1686; Liu y col. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 8648). Entre otros métodos se incluyen los descritos por Paulus, Behring Inst. Mitt., N.º 78, 118 (1985); Brennan y col. (1985) Science 30 Method:81 o Glennie y col. (1987) J. Immunol. 139, 2367. En otro método se utiliza o-fenilendimaleimida (oPDM) para conjugar tres fragmentos Fab' (documento WO 91/03493). También son adecuados en el contexto de esta invención los anticuerpos multiespecíficos y pueden prepararse, por ejemplo, según las explicaciones de los documentos WO 94/13804 y WO 98/50431.

El término «proteína de fusión» se refiere preferiblemente a una molécula natural o sintética compuesta por una o más proteínas o péptidos, o fragmentos de los mismos que tienen especificidad diferente, que se unen entre sí opcionalmente mediante una molécula enlazadora. Como realización específica el término incluye construcciones de fusión, en las que al menos una proteína o péptido es una inmunoglobulina o anticuerpo, respectivamente, o una parte del mismo («inmunconjugados»).

El término «inmunconjugado» preferiblemente se refiere a un anticuerpo o inmunoglobulina, respectivamente, o un fragmento inmunológicamente eficaz del mismo, que se fusiona mediante enlace covalente a una molécula no inmunológicamente eficaz. Preferiblemente, esta pareja de fusión es un péptido o una proteína, que puede estar glucosilada. Dicha molécula no anticuerpo puede unirse al extremo C-terminal de las cadenas pesadas constantes del anticuerpo o a los extremos N terminales de las cadenas ligera y/o pesada variables. Las parejas de fusión pueden estar unidas a través de una molécula enlazadora, que, por norma, es un péptido que contienen de 3 a 15 restos de aminoácidos. Los inmunconjugados según la invención constan de una inmunoglobulina o fragmento inmunoterapéuticamente eficaz de la misma, dirigida frente a un receptor tirosina quinasa, preferiblemente un

receptor ErbB (ErbB1/ErbB2) y un péptido antagonista de integrinas, o un receptor angiogénico, preferiblemente una integrina o receptor de VEGF y TNF α o una proteína de fusión que está compuesta esencialmente por TNF α e IFN γ u otra citoquina adecuada, que está enlazada con su extremo N-terminal al extremo C-terminal de dicha inmunoglobulina, preferiblemente la porción Fc de la misma. El término incluye también las construcciones de fusión correspondientes que comprenden inmunoglobulinas (anticuerpos) bi o multispecíficas o fragmentos de las mismas.

El término «citoquina» es preferiblemente un término genérico para las proteínas liberadas por una población celular que actúan sobre otras células como mediadores intercelulares. Son ejemplos de estas citoquinas las linfoquinas, monoquinas y hormonas polipeptídicas tradicionales. Entre las citoquinas se incluyen las hormonas del crecimiento, como las hormonas de crecimiento humano, hormona de crecimiento humano N-metionilo y hormona de crecimiento bovino; hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorrelaxina; hormonas glucoproteicas como la hormona folículo estimulante (FSH), hormona estimulante de tiroides (TSH) y la hormona luteinizante (LH); factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos; prolactina; lactógeno placentario; péptido asociado a gonadotropina de ratón; inhibina; activita; factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF); integrina; trombopoyetina (TPO); factores de crecimiento nervioso como NGF β ; factor de crecimiento de plaquetas; factores de crecimiento transformante (TGF) como TGF α y TGF β ; eritropoyetina (EPO); interferones como IFN α , IFN β e IFN γ ; factores estimulantes de colonias como M-CSF, GM-CSF y G-CSF; interleuquinas como IL-1, IL-1a, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12 y TNF α o TNF β . Las citoquinas preferidas según la invención son los interferones y el TNF α .

El término «agente citotóxico» según se usa en este documento se refiere preferiblemente a una sustancia que inhibe o previene la función celular y/o causa la destrucción de las células. Preferiblemente, el término pretende incluir isótopos radiactivos, agentes quimioterapéuticos y toxinas, como toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de las mismas. El término puede incluir también miembros de la familia de las citoquinas, preferiblemente IFN γ así como agentes antineoplásicos que también tienen actividad citotóxica.

Los términos «agente quimioterapéutico» o «agente antineoplásico» se contemplan según la explicación de esta invención, preferiblemente como un miembro de la clase de «agentes citotóxicos», como se especifica anteriormente, e incluye agentes químicos que muestran efectos antineoplásicos, es decir, evitan el desarrollo, maduración o diseminación de las células neoplásicas, directamente sobre las células tumorales, por ejemplo, mediante efectos citostáticos o citotóxicos, e indirectamente a través de mecanismos como la modificación de la respuesta biológica. Los agentes quimioterapéuticos adecuados según la invención son preferiblemente compuestos químicos naturales o sintéticos, aunque moléculas biológicas, como proteínas, polipéptidos, etc., no están expresamente excluidas. Hay un gran número de agentes antineoplásicos disponibles para su uso comercial, en evaluación clínica y en desarrollo preclínico, que podrían incluirse en la presente invención para el tratamiento de tumores o neoplasias en politerapia con TNF α y los agentes antiangiogénicos citados anteriormente, opcionalmente con otros agentes como antagonistas del receptor de EGF. Cabe destacar que los agentes quimioterapéuticos pueden administrarse opcionalmente junto con la politerapia farmacológica mencionada anteriormente. Entre los agentes quimioterapéuticos o quimioterapia se incluyen agentes alquilantes, por ejemplo, las mostazas nitrogenadas, compuestos de etilenimina, sulfonatos alquílicos y otros compuestos con una acción alquilante como nitrosoureas, cisplatino y dacarbazina; antimetabolitos, por ejemplo, ácido fólico, antagonistas de purina o pirimidina; inhibidores mitóticos, por ejemplo, alcaloides vinca y derivados de podofilotocina; antibióticos citotóxicos y derivados de camptotecina. Entre los agentes quimioterapéuticos o quimioterapia preferidos se incluyen amifostina (etiol), cisplatino, dacarbazina (DTIC), dactinomicina, mecloretamina (mostaza nitrogenada), estreptozocina, ciclofosfamida, carmustina (BCNU), lomustina (CCNU), doxorubicina (adriamicina), doxorubicina liposomal (doxil), gemcitabina (gemzar), daunorubicina, daunorubicina liposomal (daunoxoma), procarbazona, mitomicina, citarabina, etopósido, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), vinblastina, vincristina, bleomicina, paclitaxel (taxol), docetaxel (taxotero), aldesleucina, asparaginasa, busulfán, carboplatino, cladribina, camptotecina, CPT-11, 10-hidroxi-7-etil-camptotecina (SN38), dacarbazina, floxuridina, fludarabina, hidroxiaurea, ifosfamida, idarubicina, mesna, interferón alfa, interferón beta, irinotecán, mitoxantrona, topotecán, leuprolido, megestrol, melfalán, mercaptopurina, plicamicina, mitotano, pegaspargasa, pentostatina, pipobromán, plicamicina, estreptozocina, tamoxifeno, tenipósido, testolactona, tioguanina, tiotepa, mostaza de uracilo, vinorelbina, clorambucilo y combinaciones de los mismos.

Entre los agentes quimioterapéuticos preferidos según la invención se incluye cisplatino, gemcitabina, temozolomida, doxorubicina, paclitaxel (taxol) y bleomicina.

El término «inmunotóxico» se refiere preferiblemente a un agente que combina la especificidad de una inmunomolécula, por ejemplo, un anticuerpo o equivalente funcional del mismo con un resto tóxico, por ejemplo, una función citotóxica como se ha definido anteriormente.

Entre los ejemplos adicionales de agentes antineoplásicos coterapéuticos y, preferiblemente, de agentes quimioterapéuticos, agentes citotóxicos, agentes inmunomoduladores y/o agentes inmunotóxicos se incluyen preferiblemente anticuerpos frente a una o más dianas, preferiblemente seleccionadas entre el grupo compuesto por HER, HER2, PDGF, PDGFR, EGF, EGFR, VEGF, VEGFR y/o VEGFR2, en el que dichos anticuerpos se seleccionan preferiblemente entre Herceptin, bevacizumab (rhuMAb-VEGF, Avastin[®]), cetuximab (Erbix[®]) y nimotuzumab, y preferiblemente moléculas pequeñas o nuevas entidades químicas frente a una o más de estas dianas, preferiblemente seleccionadas entre el grupo compuesto por sorafenib (Nexavar[®]), sunitinib (Sutent[®]) y ZD6474 (ZACTIMA[™]).

En un aspecto preferido de la presente invención, los agentes quimioterapéuticos, agentes citotóxicos, agentes inmunomoduladores y/o agentes inmunotóxicos se seleccionan entre uno o más de los grupos siguientes:

- a) agentes alquilantes,
- b) antibióticos,
- c) antimetabolitos,
- d) agentes biológicos e inmunomoduladores,
- e) hormonas y antagonistas de los mismos,
- f) derivados del gas mostaza,
- g) alcaloides,
- h) inhibidores de proteína quinasas.

En un aspecto más preferido de la presente invención, los agentes quimioterapéuticos, agentes citotóxicos, agentes inmunomoduladores y/o agentes inmunotóxicos se seleccionan entre uno o más de los grupos siguientes:

- a) agentes alquilantes seleccionados entre busulfán, melfalán, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, dacarbazina, carmustina (BCNU), nimustina (ACNU), lomustina (CCNU), ifosfamida, temozolomida y altretamina,
- b) antibióticos, seleccionados entre leomicina, doxorubicina, adriamicina, idarubicina, epirubicina y plicamicina,
- c) antimetabolitos, seleccionados entre sulfonamidas, antagonistas del ácido fólico, gemcitabina, 5-fluorouracilo (5-FU), leucovorina, leucovorina con 5-FU, 5-FU con folinato de calcio y leucovorina, capecitabina, mercaptopurina, cladribina, pentostatina, metotrexato, raltitrexed, pemetrexed, tioguanina y derivados de camptotecina (topotecán, irinotecán),
- d) agentes biológicos e inmunomoduladores, seleccionados entre interferón $\alpha 2A$, interleuquina 2 y levamisol,
- e) hormonas y antagonistas de las mismas, seleccionadas entre flutamida, goserelina, mitotano y tamoxifeno,
- f) derivados de gas mostaza, seleccionados entre melfalán, carmustina y mostaza nitrogenada,
- g) alcaloides, seleccionados entre taxanos, docetaxel, paclitaxel, etopósido, vincristina, vinblastina y vinorelbina.

Las dosis y preferiblemente las pautas de administración estándar para los agentes antineoplásicos coterapéuticos dados anteriormente son conocidas en la técnica.

Los términos «cáncer» y «tumor» se refieren o describen preferiblemente la condición fisiológica en mamíferos que se caracteriza típicamente por un crecimiento celular incontrolado, tales como tumores de mama, corazón, pulmón, intestino delgado, colon, bazo, riñón, vejiga, cabeza y cuello, ovario, próstata, cerebro, páncreas, piel, hueso, médula ósea, sangre, timo, útero, testículos, cuello uterino e hígado, y más específicamente adenoma, angiosarcoma, astrocitoma, carcinoma epitelial, germinoma, glioblastoma, glioma, hamartoma, hemangioendotelioma, hemangiosarcoma, hematoma, hepatoblastoma, leucemia, linfoma, meduloblastoma, melanoma, neuroblastoma, osteosarcoma, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, sarcoma y teratoma.

En detalle, el tumor/cáncer se selecciona entre el grupo compuesto por melanoma lentiginoso acral, queratosis actínica, adenocarcinoma, carcinoma cístico adenoide, adenomas, adenosarcoma, carcinoma adenoescamoso,

tumores astrocíticos, carcinoma de la glándula de bartolino, carcinoma basocelular, carcinomas glandulares bronquiales, capilar, carcinoides, carcinoma, carcinosarcoma, cavernoso, colangiocarcinoma, condrosarcoma, papiloma/carcinoma del plexo coroideo, carcinoma de células claras, cistadenoma, tumor del seno endodérmico, hiperplasia endometrial, sarcoma del estroma endometrial, adenocarcinoma endometrioide, ependimal, epiteloide, sarcoma de Ewing, fibrolamelar, hiperplasia nodular focal, gastrinoma, tumores de células germinales, glioblastoma, glucagonoma, hemangioblastomas, hemangioendotelioma, hemangiomas, hepatoadenoma, adenomatosis hepática, carcinoma hepatocelular, insulinooma, neoplasia intraepitelial, neoplasia interepitelial de células escamosas, carcinoma invasivo de células escamosas, carcinoma de células grandes, leiomiomasarcoma, melanomas lentigo malignos, melanoma maligno, tumores mesoteliales malignos, meduloblastoma, meduloepitelioma, melanoma, meníngeo, mesotelial, carcinoma metastásico, carcinoma mucoepidermoide, neuroblastoma, adenocarcinoma neuroepitelial, melanoma nodular, carcinoma de célula en avena, oligodendrogial, osteosarcoma, polipéptido pancreático, adenocarcinoma papilar seroso, pineal, tumores de la pituitaria, plasmocitoma, pseudosarcoma, blastoma pulmonar, carcinoma de células renales, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, sarcoma, carcinoma seroso, carcinoma microcítico, carcinomas de tejidos blandos, tumor secretor de somatostatina, carcinoma escamoso, carcinoma de células escamosas, submesotelial, melanoma superficial diseminante, carcinoma indiferenciado, melanoma uveal, carcinoma verrucoso, vipoma, carcinoma bien diferenciado y tumor de Wilm.

El tumor/cáncer se selecciona entre el grupo compuesto por astrocitoma, preferiblemente astrocitoma de grado II, III o IV, glioblastoma y, especialmente preferible, glioblastoma multiforme (GBM).

Las «composiciones farmacéuticas» pueden comprender agentes que reducen o eliminan los efectos secundarios asociados con la politerapia de la presente invención («terapia complementaria»), que incluye, pero sin limitaciones, aquellos agentes que, por ejemplo, reducen el efecto tóxico de agentes antineoplásicos, p. ej., inhibidores de la resorción ósea o agentes cardioprotectores. Dichos agentes auxiliares previenen o reducen la incidencia de náuseas y vómitos asociados con quimioterapia, radioterapia o intervención quirúrgica, o reducen la incidencia de infección asociada con la administración de fármacos antineoplásicos mielodepresores. Los agentes auxiliares son bien conocidos en la técnica. Los agentes inmunoterapéuticos según la invención pueden administrarse adicionalmente con auxiliares como BCG y estimuladores del sistema inmunitario. Adicionalmente, las composiciones pueden incluir agentes inmunoterapéuticos o agentes quimioterapéuticos que contienen isótopos marcados radioactivamente eficaces como citotóxicos u otros agentes citotóxicos, como péptidos citotóxicos (p. ej., citoquinas) o fármacos citotóxicos y similares.

El término «kit farmacéutico» para el tratamiento de tumores o metástasis tumorales se refiere a un envase y, como norma, a las instrucciones para el uso de los reactivos en métodos para tratar tumores y metástasis tumorales. Típicamente, un reactivo en un kit de esta invención se formula como composición terapéutica según se describe en este documento y, por tanto, puede estar en cualquiera de las diversas formas adecuadas para su distribución en un kit. Entre estas formas se pueden incluir un líquido, polvo, comprimido, suspensión y la formulación similar para proporcionar el antagonista y/o la proteína de fusión de la presente invención. Los reactivos pueden proporcionarse en recipientes independientes adecuados para su administración por separado según los métodos actuales, o alternativamente, pueden proporcionarse en combinación con una composición en un único recipiente en el envase. El envase puede contener una cantidad suficiente de una o más dosis de reactivos según los métodos de tratamiento descritos en este documento. Un kit de esta invención también contiene «instrucciones de uso» de los materiales contenidos en el envase.

Según se usa en este documento, el término «farmacéuticamente aceptable» y las variaciones gramaticales del mismo, cuando se refieren a composiciones, vehículos, diluyentes y reactivos, se utilizan indistintamente, y representan que los materiales son adecuados para su administración a o sobre un mamífero sin la producción de efectos fisiológicos no deseados, como náuseas, mareos, molestias gástricas y similares. La preparación de una composición farmacológica que contiene principios activos disueltos o dispersos en la misma es bien conocida en la técnica y no es necesario limitarse en base a su formulación. Típicamente, estas composiciones se preparan como inyectables, bien como soluciones o suspensiones líquidas; sin embargo, también pueden prepararse formas sólidas adecuadas para solución, o suspensiones, en líquido antes de su uso. La preparación también puede emulsionarse. El principio activo puede mezclarse con excipientes que sean farmacéuticamente aceptables y compatibles con el principio activo y en cantidades adecuadas para su uso en los métodos terapéuticos descritos en este documento. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol o similares y combinaciones de los mismos. Además, si se desea, la composición puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH y similares que potencien la eficacia del principio activo. La composición terapéutica de la presente invención puede incluir sales farmacéuticamente aceptables de sus componentes. Entre las sales farmacéuticamente aceptables se incluyen sales de adición de ácido (formadas con los grupos amino libres del polipéptido) que se forman con ácidos inorgánicos, como por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o con ácidos orgánicos como acético, tartárico, mandélico y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también pueden derivar de bases inorgánicas como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o hierro, así como de bases orgánicas como isopropilamina, trimetilamina, 2-etilaminoetanol, histidina, procaína y similares. Es particularmente preferida la

sal HCl cuando se usa en la preparación de polipéptidos cíclicos antagonistas de α_v . Los vehículos fisiológicamente tolerables son bien conocidos en la técnica. Entre los ejemplos de vehículos líquidos están soluciones acuosas estériles que no contienen materiales añadidos a los principios activos y agua, o contienen un tampón como fosfato sódico a un valor de pH fisiológico, solución salina fisiológica o ambos, como solución salina tamponada con fosfato. Aún más, los vehículos acuosos pueden contener más de una sal tamponadora, así como sales como cloruros sódico y potásico, dextrosa, polietilenglicol y otros solutos. Las composiciones líquidas también pueden contener fases líquidas además de y como exclusión del agua. Ejemplos de estas fases líquidas adicionales son glicerina, aceites vegetales como aceite de semilla de algodón y emulsiones de aceite en agua.

Típicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente inmunoterapéutico en forma de, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo o conjugado de anticuerpo es una cantidad tal que, cuando se administra en una composición fisiológicamente tolerable, es suficiente para conseguir una concentración plasmática de aproximadamente 0,01 microgramos (μg) por mililitro (ml) a aproximadamente 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, preferiblemente de aproximadamente 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ a aproximadamente 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y, normalmente, aproximadamente 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Establecidas de forma diferente, las dosis pueden variar de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 300 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,2 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, en una o más administraciones diarias durante uno o varios días. Cuando el agente inmunoterapéutico está en forma de fragmento de un anticuerpo monoclonal o un conjugado, la cantidad puede ajustarse fácilmente en base a la masa del fragmento / conjugado en relación con la masa del anticuerpo completo. Una concentración plasmática en molaridad preferida es de aproximadamente 2 micromolar (μM) a aproximadamente 5 milimolar (mM) y, preferiblemente, de aproximadamente 100 μM a 1 mM de antagonista del anticuerpo. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente según esta invención que es un péptido no inmunoterapéutico o un polipéptido proteico (p. ej., IFN-alfa) u otra molécula pequeña de tamaño similar, típicamente es una cantidad de polipéptido que cuando se administra en una composición fisiológicamente tolerable es suficiente para lograr una concentración plasmática de aproximadamente 0,1 microgramo (μg) por mililitro (ml) a aproximadamente 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$, preferiblemente de aproximadamente 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ a aproximadamente 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$. En base a un polipéptido que tiene una masa de aproximadamente 500 gramos por mol, la concentración plasmática preferida en molaridad es de aproximadamente 2 micromolar (μM) a aproximadamente 5 milimolar (mM) y preferiblemente de 100 μM a 1 mM de antagonista del polipéptido. La dosis típica de un agente activo, que es preferiblemente un antagonista químico o un agente quimioterapéutico (químico) según la invención (ni agente inmunoterapéutico ni péptido/proteína no inmunoterapéutico) es de 10 a 1000 mg, preferiblemente de aproximadamente 20 a 200 mg y, más preferiblemente, de 50 a 100 mg por kilogramo de peso corporal y día. La dosis preferida de un principio activo, que es preferiblemente un antagonista químico o un agente quimioterapéutico (químico) según la invención (ni un agente inmunoterapéutico ni un péptido/proteína no inmunoterapéutico) es de 0,5 mg a 3000 mg por paciente y día, más preferiblemente de 10 a 2500 mg por paciente y día y, especialmente, de 50 a 1000 mg por paciente y día o por kilogramo de peso corporal, preferiblemente aproximadamente de 0,1 a 100 mg/kg y, más preferiblemente, de 1 mg a 50 mg/kg, preferiblemente por unidad de dosis y, más preferiblemente por día, o por metro cuadrado de superficie corporal, preferiblemente de 0,5 mg a 2000 mg/m^2 , más preferiblemente de 5 a 1500 mg/m^2 y, especialmente, de 50 a 1000 mg/m^2 , preferiblemente por unidad de dosis y, más preferiblemente, por día.

Los términos «terapéuticamente eficaz» o «cantidad terapéuticamente eficaz» se refieren a una cantidad de un fármaco eficaz para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede reducir el número de células cancerosas, reducir el tamaño del tumor, inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y, preferiblemente, detener) la infiltración de las células cancerosas en órganos periféricos, inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y, preferiblemente, detener) la metástasis tumoral, inhibir, hasta cierto punto, el crecimiento tumoral y/o aliviar hasta cierto punto uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. Dependiendo del grado al que el fármaco puede prevenir el crecimiento y/o matar a las células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. En el caso del tratamiento contra el cáncer, la eficacia puede determinarse, por ejemplo, evaluando el tiempo hasta la progresión de la enfermedad (TPE) y/o determinando la tasa de respuesta (TR).

Según se usa en este documento, el término «solvato» se refiere preferiblemente a un complejo de estequiometría variable compuesto por un soluto (en esta invención, un compuesto ligando de integrinas y/o otro agente antineoplásico coterapéutico (o una sal o derivado fisiológicamente funcional de la misma)) y un solvente. Estos solventes para el objetivo de la invención pueden no interferir con la actividad biológica del soluto. Entre los ejemplos de solventes adecuados se incluyen, pero sin limitaciones, agua, metanol, etanol y ácido acético. Preferiblemente, el solvente utilizado es un solvente farmacéuticamente aceptable. Entre los ejemplos de solventes farmacéuticamente aceptables adecuados se incluyen, pero sin limitaciones, agua, etanol y ácido acético. Más preferiblemente, el solvente usado es agua. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos que se utilizarán según la invención y su preparación son conocidas en la técnica. Si el compuesto en sí no es una sal, puede transferirse fácilmente a una sal mediante la adición de un ácido farmacéuticamente aceptable o de una base farmacéuticamente aceptable. Los ácidos y bases farmacéuticamente aceptables son conocidos en la técnica, por ejemplo a partir de la literatura citada en este documento.

Los compuestos para su uso según la invención, el ligando específico de integrinas y/o al menos un agente antineoplásico coterapéutico adicional diferente de al menos un ligando específico de integrinas seleccionado entre temozolomida, pueden administrarse generalmente al paciente en una forma y en una vía o manera que es conocida en la técnica para los compuestos o clases de compuestos respectivos, por ejemplo, como se describe en este documento o como se describe en la literatura citada en este documento.

El ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se aplica preferiblemente como una sal farmacéuticamente aceptable, más preferiblemente la sal clorhidrato farmacológicamente aceptable y, especialmente, se aplica preferiblemente como una sal interior (o interna), que es el compuesto ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) como tal.

Con respecto al ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), las siguientes formas de escribir el nombre se contemplan preferiblemente como equivalentes:

ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) = ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMe-Val) = ciclo(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) = ciclo(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMe-Val) = cRGDfNMeV = c(RGDfNMeV).

Resultados recientes muestran que la inhibición de las integrinas, especialmente $\alpha_v\beta_3$ y/o $\alpha_v\beta_5$, normalmente expresadas en diversas células cancerosas, como las de glioblastoma, puede disminuir significativamente la resistencia a la radiación ionizante de las células cancerosas de lo contrario radorresistentes y/o pueden inducir un aumento de la sensibilidad de las células cancerosas a la radiación ionizante. A este respecto, la radiación ionizante es preferiblemente radiación de haz externo y especialmente radiación de haz externo fraccionada.

Especialmente con respecto a tumores cerebrales primarios, como astrocitoma y glioblastoma multiforme, morirán un porcentaje significativo de pacientes debido a una recidiva originada en los campos de radiación, probablemente como resultado de una baja sensibilidad del tumor a la radiación causada por una activación de la señalización de supervivencia. Este aumento de la resistencia a la radiación (denominada a partir de ahora «radorresistencia») es debido a la modulación de diferentes rutas biológicas de transducción de señales y a interferencias entre las células tumorales y su microentorno.

Por consiguiente, los ligandos específicos de integrinas, especialmente los ligandos específicos de las integrinas $\alpha_v\beta_3$ y/o $\alpha_v\beta_5$ según la invención, pueden aplicarse con éxito para mejorar la eficacia de diversos agentes antineoplásicos coterapéuticos y especialmente la eficacia de la radioterapia. A este respecto, la radioterapia es preferiblemente radiación de haz externo y radiación de haz externo fraccionada.

El glioblastoma (GBM, astrocitoma, grado IV de la OMS), también denominado glioblastomamultiforme o glioblastoma multiforme, es un tumor cerebral invasivo con mal pronóstico y una mediana de supervivencia independiente del tratamiento de aproximadamente 14-15 meses. En general, los tumores localmente invasivos reciden de forma inevitable, aunque se traten con cirugía, quimioterapia o radiación. El estado actual del régimen de la técnica («Protocolo EORTC» según establecieron Stupp y colaboradores) utiliza radioterapia graduada acompañada por el agente citotóxico temozolomida (véase especialmente R. Stupp y col., NEJM 2005). Hasta el momento, esto ha prolongado la esperanza de vida de los pacientes en algunos meses en el mejor de los casos.

El glioblastoma está altamente vascularizado y es necesario un proceso angiogénico para el desarrollo tumoral. Tanto la vasculatura de GBM como los propios GBM sobreexpresan la integrina $\alpha_v\beta_3$. Se ha demostrado *in vitro* que esto favorece la supervivencia de las líneas celulares de GBM, y que es una característica del endotelio angiogénico, introducido en el ciclo celular por factores de crecimiento derivados del tumor como VEGF. La inhibición de $\alpha_v\beta_3$ en células endoteliales y en líneas celulares de glioblastoma aisladas induce muerte celular y puede activar la apoptosis. También se ha demostrado que la radioterapia induce la expresión de $\alpha_v\beta_3$ en células endoteliales. En conjunto, estos datos sugieren que $\alpha_v\beta_3$ puede favorecer la supervivencia del compartimento vascular y tumoral del GBM.

Cilengitide es un pentapéptido cíclico que se une específicamente a integrinas alfa-v, de forma destacable a $\alpha_v\beta_3$, e inhibe la activación mediante sus ligandos dentro de la matriz extracelular. Cilengitide induce preferiblemente apoptosis en cultivos de células endoteliales y de GBM.

En un estudio clínico en fase I se utilizó el tratamiento con Cilengitide en un estudio de aumento de dosis en diversos tumores cerebrales (NABT 9911). En algunos de los pacientes con GBM de este estudio, se observó un indicio de respuesta. Cilengitide (= ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), en contraste muy notable con la mayoría de agentes antineoplásicos terapéuticos actualmente en uso, presenta un perfil de efectos secundarios muy inocuo, con una DMT no conocida en humanos y se tolera muy bien.

Además de la mortalidad esencialmente del 100% en pacientes con GBM (tasa de supervivencia a 2 años aproximadamente del 25%), la morbilidad debida a complicaciones neurológicas también degrada rápidamente la calidad de vida (CdV).

5 Por tanto, es un objetivo de la presente invención proporcionar un tratamiento más eficaz y mejor tolerado para los pacientes con GBM que mejore su CdV y aumente la mediana de supervivencia, preferiblemente también en pacientes con GBM tras la primera redivida, así como en la primera línea de tratamiento de dichos pacientes.

10 Por tanto, en la aplicación se describe un método de tratamiento de GBM, que comprende la administración de Cilengitide mediante infusión i.v. en paciente con GBM, preferiblemente pacientes con GBM tras una primera redivida, más preferiblemente pacientes recién diagnosticados de GBM (tratamiento de 1ª línea), preferiblemente hasta que se produzca progresión del tumor, estabilización de la enfermedad o curación. En este método de tratamiento, el Cilengitide se administra preferiblemente dos veces a la semana (p. ej., q3q4), preferiblemente mediante infusión i.v. durante aproximadamente 1 h, preferiblemente mediante infusión en solución salina y, preferiblemente, a dosis fija de 500 mg o dosis fija de 2000 mg.

15 De forma ventajosa, los indicios por RM y neurológicos de respuesta del tumor objetivo frente a este método de tratamiento pueden observarse en al menos el 20% de los pacientes con GBM patológicamente confirmada en tratamiento.

Este método de tratamiento puede, opcionalmente, combinarse parcial o totalmente con la administración de uno o más agentes antineoplásicos coterapéuticos, preferiblemente como se describe en este documento.

20 Además, debido a la eficacia sinérgica que mejora las propiedades del ligando específico de integrinas Cilengitide con diversos agentes antineoplásicos coterapéuticos, se describe la combinación de Cilengitide con al menos un agente quimioterapéutico y radiación de haz externo.

25 Por ejemplo, el tratamiento estándar del glioblastoma multiforme, que se asocia con radioterapia y temozolomida, presenta solo un aumento en la mediana de supervivencia de pacientes sometidos a resección de 2,5 meses (12,1 → 14,6 meses) en comparación con solo radioterapia (Stupp y col., 2005). Sin embargo, en combinación con al menos un ligando específico de integrinas para su uso según la invención seleccionado entre ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), este tratamiento convencional muestra una eficacia significativamente mejorada con respecto a un aumento de la mediana de supervivencia y de calidad de vida. Por consiguiente, esta combinación de radioterapia, temozolomida y al menos un ligando específico de integrinas como se describe en este documento, es el aspecto de la presente invención.

30 Por tanto, combinaciones de al menos un ligando específico de integrinas, como se describe en este documento, y al menos un agente neoplásico coterapéutico como se describe en este documento, pueden ser utilizadas de forma eficaz para tratar el crecimiento tumoral intracerebral en el cerebro de un huésped. El crecimiento tumoral intracerebral en el cerebro de un huésped incluye, pero sin limitaciones, tumores cerebrales primarios, astrocitoma, como astrocitoma de grado I-IV (OMS) y, especialmente, glioblastoma multiforme. El crecimiento tumoral intracerebral incluye también preferiblemente metástasis intercerebrales de otros tipos de cáncer, preferiblemente tipos de cáncer seleccionados entre cáncer de pulmón microcítico y cáncer de pulmón no microcítico, preferiblemente, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama, melanoma metastásico, cáncer de próstata no dependiente de andrógenos metastásico, cáncer de próstata dependiente de andrógenos metastásico y, más preferiblemente, cáncer de mama, cáncer de pulmón microcítico y, especialmente, cáncer de pulmón no microcítico.

40 El objeto preferido de la presente invención es el uso de al menos un ligando específico de integrinas, seleccionado a partir de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y los solvatos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con temozolomida y radioterapia y, en el que, el astrocitoma es glioblastoma o glioblastoma multiforme.

45 El uso preferido es como se describe en este documento, en el que la radioterapia es radiación de haz externo fraccionada.

El uso preferido es como se describe en este documento, en el que dicho ligando específico de integrinas se aplica sustancialmente de forma concurrente o secuencial con la temozolomida y/o la radioterapia.

50 El uso preferido es como se describe en este documento, en el que al menos un ligando de integrina es ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal).

El uso preferido es como se describe en este documento, en el que al menos uno de los ligandos específicos de integrinas se administra de 1 a 8 horas (h) antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

El uso más preferido es como se describe en este documento, en el que al menos uno de los ligandos específicos de integrinas se administra de 2 a 6 horas antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

Especialmente preferido es el uso de al menos un ligando específico de integrinas que comprende ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con radioterapia, en el que al menos el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo se administran de 1 a 10 horas antes de la aplicación de la radioterapia y en el que se aplica al menos un agente neoplásico coterapéutico que comprende temozolomida.

Especialmente preferido es el uso de al menos un ligando de integrinas específico, que contiene ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de glioblastoma multiforme, en el que el medicamento se usa en combinación con temozolomida y radioterapia.

Especialmente se prefiere el uso en el que la radioterapia es radiación de haz externo.

El uso preferido es según se describe en este documento, en el que al menos el ligando específico de integrinas se aplica de 1 a 32 horas antes de la aplicación de uno o más agentes antineoplásicos coterapéuticos y/o radioterapia.

Especialmente preferido es el uso de al menos un ligando específico de integrinas que comprende ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con temozolomida y radioterapia, y en el que al menos el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo se administran a un paciente en una cantidad de 800 a 7000 mg a la semana.

Se prefiere el uso según se describe en ese documento, en el que ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra a un paciente en una cantidad de aproximadamente 1000 mg a la semana, aproximadamente 1500 mg a la semana, aproximadamente 2500 mg a la semana, aproximadamente 4000 mg a la semana o aproximadamente 6000 mg a la semana.

Más preferido es el uso como se describe en este documento, en el que la cantidad de aproximadamente 1000 mg por semana o aproximadamente 4000 mg por semana se administra en un programa de administración dos veces a la semana y la cantidad de aproximadamente 1500 mg por semana o aproximadamente 6000 mg por semana se administra en un programa de administración de tres veces por semana.

Alternativamente preferido es el uso como se describe en este documento, en el que la cantidad de aproximadamente 1000 mg por semana se administra en un programa de administración de dos veces por semana consistente en aproximadamente 500 mg por administración o la cantidad de aproximadamente 4000 mg por semana se administra en un programa de administración de dos veces por semana de aproximadamente 2000 mg por administración.

Especialmente preferido es el uso como se describe en este documento, en el que al menos un ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo se administra de 2 a 8 horas o de 3 a 8 horas antes de la aplicación de la radioterapia.

Adicionalmente preferido es el uso de al menos un ligando específico de integrinas que comprende ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con radioterapia, en el que al menos el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo se administran de 1 a 10 horas antes de la aplicación de la radioterapia, en el que se aplica al menos un agente neoplásico coterapéutico que comprende temozolomida y en el que adicionalmente se aplica un agente antineoplásico coterapéutico adicional, seleccionado entre cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, 5-FU, darcabazina, procarbazona, vinblastina, vincristina, irinotecán, taxol, paclitaxel, docetaxel, gemcitabina, gleevec, iressa, tarceva y nexavar, Herceptin, bevacizumab, cetuximab, nimotuzumab, sorafenib, sunitinib y ZD6476 (ZACTIMA™) e incluso más preferiblemente se selecciona entre cisplatino, oxaliplatino, vinblastina, taxol, gemcitabina, gleevec e iressa. En esta realización la radioterapia es preferiblemente radiación de haz externo. En esta realización, al menos el ligando específico de integrinas se aplica de 1 a 32 horas antes de la aplicación de uno o más agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales y/o radioterapia. En esta realización, al menos el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se administra a un paciente en una cantidad de 800 mg a 7000 mg por semana. En esta realización, ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra preferiblemente a un paciente en una cantidad de aproximadamente 1000 mg a la semana, aproximadamente 1500 mg a la semana, aproximadamente

2500 mg a la semana, aproximadamente 4000 mg a la semana o aproximadamente 6000 mg a la semana. En esta realización, la cantidad de aproximadamente 1000 mg por semana o aproximadamente 4000 mg por semana se administra en un programa de administración de dos veces a la semana y la cantidad de aproximadamente 1500 mg por semana o aproximadamente 6000 mg por semana se administra preferiblemente en un programa de administración de tres veces por semana. En esta realización, la cantidad de aproximadamente 1000 mg por semana se administra preferiblemente en un programa de administración de dos veces por semana consistente en aproximadamente 500 mg por administración o la cantidad de aproximadamente 4000 mg por semana se administra preferiblemente en un esquema de administración de dos veces por semana de aproximadamente 2000 mg por administración. En esta realización, al menos el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se administra preferiblemente de 2 a 8 horas o de 3 a 8 horas antes de la aplicación de la radioterapia.

Por tanto, la invención también se refiere al uso de

(una composición que contiene) al menos un ligando específico de integrinas, seleccionado entre ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal),

para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con los dos agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales, temozolomida y radioterapia, más preferiblemente radiación de haz externo y, especialmente, radiación de haz externo fraccionada. Preferiblemente, el ligando específico de integrinas se aplica sustancialmente de forma concurrente o secuencial a al menos uno de los agentes antineoplásicos coterapéuticos.

Por consiguiente, un aspecto preferido de la presente invención se refiere al uso de

(una composición que contiene) al menos un ligando específico de integrinas, que comprende ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal),

para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de glioblastoma multiforme, en el que el medicamento se usa en combinación con los dos agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales, temozolomida y radioterapia, preferiblemente temozolomida y radiación de haz externo y, especialmente, temozolomida y radiación de haz externo fraccionada. También en este aspecto preferido, al menos el ligando específico de integrinas se aplica preferiblemente de forma programada como se describe en este documento.

Especialmente preferible, la invención también se refiere al uso de (una composición que contiene) al menos un ligando específico de integrinas seleccionado a partir de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con los dos agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales, temozolomida y radioterapia, preferiblemente más preferiblemente radiación de haz externo y especialmente radiación de haz externo fraccionada, en el que al menos uno de los ligandos específicos de integrinas se administra en una administración programada como se describe en este documento, preferiblemente de 1 a 8 horas (h), preferiblemente de 2 a 6 h y, más preferiblemente de 2 a 4 h antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

Incluso más preferiblemente, la invención también se refiere al uso de

a) (una composición que contiene) al menos un ligando específico de integrinas y

b) otros agentes antineoplásicos coterapéuticos diferentes de al menos un ligando específico de integrinas de a)

para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de glioblastoma, preferiblemente glioblastoma multiforme en animales humanos,

en el que al menos un ligando específico de integrinas es ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y los agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales diferentes de al menos un ligando específico de integrinas de a) son radioterapia, preferiblemente radiación de haz externo y temozolomida, en el que a) se administra de 2 a 32 horas (h), preferiblemente de 4 a 24 h, más preferiblemente de 6 a 20 h y, más preferiblemente de 6 a 16 h antes de la aplicación de b).

Especialmente preferible, la invención también se refiere al uso de

(una composición que contiene) al menos un ligando específico de integrinas seleccionado a partir de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), solvatos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y especialmente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal),

para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con los dos agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales, temozolomida y radioterapia, preferiblemente temozolomida y radiación de haz externo y especialmente temozolomida y radiación de haz externo fraccionada, en el que al menos uno de los ligandos específicos de integrinas se administra en una administración programada como se describe en este documento, preferiblemente de 1 a 8 horas (h), preferiblemente de 2 a 6 h y, más preferiblemente de 2 a 4 h antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

Especialmente preferible, la invención también se refiere al uso de

(una composición que contiene) al menos un ligando específico de integrinas seleccionado entre ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con los dos agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales, temozolomida y radioterapia, preferiblemente temozolomida y radiación de haz externo y especialmente temozolomida y radiación de haz externo fraccionada, en el que al menos uno de los ligandos específicos de integrinas se administra de 2 a 32 horas (h), preferiblemente de 4 a 24 h, más preferiblemente de 6 a 20 h y más preferiblemente de 6 a 16 h antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

Especialmente preferible, la invención también se refiere al uso de

(una composición que contiene) al menos un ligando específico de integrinas que contiene ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal),

para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de glioblastoma multiforme, en el que el medicamento se usa en combinación con los dos agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales, temozolomida y radioterapia, preferiblemente temozolomida y radiación de haz externo y especialmente temozolomida y radiación de haz externo fraccionada, en el que al menos uno de los ligandos específicos de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra en una administración programada como se describe en este documento, preferiblemente de 1 a 24 horas (h), preferiblemente de 1 a 20 h, más preferiblemente de 2 a 20 h, más preferiblemente de 2 a 16 h, 3 a 16 h, incluso más preferiblemente de 3 a 12 h y especialmente de 4 a 10 h antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

Especialmente preferible, la invención también se refiere al uso de

(una composición que contiene) al menos un ligando específico de integrinas que comprende ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal),

para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de glioblastoma multiforme, en el que el medicamento se usa en combinación con los dos agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales, temozolomida y radioterapia, preferiblemente temozolomida y radiación de haz externo y especialmente temozolomida y radiación de haz externo fraccionada, en el que al menos el ligando específicos de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra en una administración programada como se describe en este documento, preferiblemente de 1 a 10 horas (h), preferiblemente de 2 a 8 h, más preferiblemente de 2 a 6 h, incluso más preferiblemente de 3 a 8 h, incluso más preferiblemente de 3 a 6 h y especialmente de 4 a 8 h antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

Resultados *in vitro* recientes muestran un aumento de la muerte o el deterioro celular tras el tratamiento con politerapia de líneas celulares de cáncer de pulmón, como A549, H157, H322, H460 y/o H1975, con ligandos específicos de integrinas, como Vitaxin, Abegrin, CNT095 y ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y agentes antineoplásicos coterapéuticos, como cisplatino, oxaliplatino, vinblastina, taxol, gemcitabina, gleevec, iressa y radioterapia, preferiblemente radiación de haz externo y/o radiación de haz externo fraccionada. Los resultados sugieren que los agentes antineoplásicos coterapéuticos, como la radiación, pueden inducir la expresión de integrinas importantes en células de cáncer de pulmón y/o que el ligando específico de integrinas actúa como un amplificador de la eficacia, por ejemplo, como un amplificador de la radiación. Además, la aplicación combinada de al menos un ligando específico de integrinas y al menos un agente antineoplásico coterapéutico, preferiblemente radiación, produce una muerte celular significativa y, por tanto, reduce considerablemente las curvas de supervivencia de las respectivas células tratadas. Por consiguiente, parece que las combinaciones inducen de forma eficaz la muerte celular, probablemente debido a apoptosis y/o muerte celular mitótica, en células endoteliales y células tumorales, especialmente en células de cáncer de pulmón y, especialmente, en células de cáncer de pulmón no microcítico. El alcance del efecto puede depender del grado de expresión de la diana, es decir, de la expresión de integrina. Por tanto, las combinaciones de al menos un ligando específico de integrinas como se describe en este documento y al menos un agente antineoplásico coterapéutico como se describe en este documento, pueden utilizarse de forma eficaz para tratar el cáncer de pulmón y especialmente el cáncer de pulmón microcítico, el cáncer de pulmón no microcítico y/o metástasis de los mismos.

Es objeto de la presente invención el uso de al menos un ligando específico de integrinas que comprende el ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con radioterapia, preferiblemente radiación de haz externo, en el que al menos el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo se administran a un paciente en una cantidad de aproximadamente 1000 mg a la semana o aproximadamente 4000 mg a la semana, combinado con uno o más agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales, que comprende temozolomida.

Es objeto de la presente invención el uso de al menos un ligando específico de integrinas que comprende ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con temozolomida y radioterapia, preferiblemente radiación de haz externo, en el que al menos el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo se administran a un paciente en una cantidad de 800 a 7000 mg a la semana.

Preferiblemente, la cantidad de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), que se administra a un paciente por semana se administra en cantidades aproximadamente iguales de aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg para cada administración.

Más preferiblemente, la cantidad de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), se administra a un paciente en una cantidad de aproximadamente 1000 mg por semana, aproximadamente 1500 mg por semana, aproximadamente 2500 mg por semana, aproximadamente 4000 mg por semana y aproximadamente 6000 mg por semana.

Preferiblemente, la cantidad de aproximadamente 1000 mg de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), por semana se administra según un programa de administración de dos veces a la semana.

Preferiblemente, la cantidad de aproximadamente 4000 mg de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), por semana se administra según un programa de administración de dos veces a la semana, preferiblemente en cantidades aproximadamente iguales de aproximadamente 2000 mg cada una.

En el caso del programa de administración dos veces por semana, la administración se hace preferiblemente el día uno y, a continuación, el día tres o el día cuatro. Por tanto, el programa de administración de dos veces por semana se realiza preferiblemente según un programa que alterna cada tres días/cada cuatro días o según un programa que alterna cada cuatro días/cada tres días, como una administración lunes y jueves (como ejemplo del programa 3/4) o martes y viernes (como ejemplo adicional del programa 3/4), o jueves y lunes (como ejemplo del programa 4/3) o viernes y martes (como ejemplo adicional del programa 4/3).

El programa de administración dos veces por semana, preferiblemente el programa de administración dos veces por semana descrito anteriormente, puede aplicarse al paciente una o varias veces. Preferiblemente, se aplica varias veces, incluso más preferiblemente al menos tres veces o al menos seis veces. Por ejemplo, el programa de administración dos veces por semana puede aplicarse de forma continua hasta que se produzca la curación, se estabilice la enfermedad o se observe progresión del tumor. Típicamente, el programa de administración dos veces por semana, preferiblemente el programa de administración dos veces por semana como se describe anteriormente, se aplica de 4 a 156 veces, tal como aproximadamente 4 veces, aproximadamente 8 veces, aproximadamente 16 veces, aproximadamente 24 veces, aproximadamente 35 veces, aproximadamente 70 veces o aproximadamente 104 veces.

El programa de administración dos veces por semana puede combinarse parcial o totalmente con radioterapia, preferiblemente radioterapia como se describe en este documento. Preferiblemente, el programa de administración dos veces por semana se combina parcialmente con radioterapia.

Preferiblemente, la cantidad de aproximadamente 1500 mg de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), por semana se administra según un programa de administración de tres veces a la semana, preferiblemente en cantidades aproximadamente iguales de aproximadamente 500 mg cada una.

Preferiblemente, la cantidad de aproximadamente 6000 mg de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), por semana se administra según un programa de administración de tres veces a la semana, preferiblemente en cantidades aproximadamente iguales de aproximadamente 2000 mg cada una.

En el programa de administración de tres veces a la semana, la administración se realiza preferiblemente un día uno, un día tres o un día cuatro y, a continuación, un día 6 o, más preferiblemente, un día uno, un día 3 o un día 5, seguido, a continuación de dos días consecutivos de descanso. Este último programa de administración tres veces por semana, por ejemplo, típicamente se inicia un lunes, seguido de una administración el miércoles siguiente y otra administración el viernes, dejando el sábado y el domingo sin tratamiento.

El programa de administración tres veces por semana, preferiblemente el programa de administración tres veces por semana descrito anteriormente, puede aplicarse al paciente una o varias veces. Preferiblemente, se aplica varias veces, incluso más preferiblemente al menos tres veces o al menos seis veces. Por ejemplo, el programa de administración tres veces por semana puede aplicarse de forma continua hasta que se produzca la curación, se establezca la enfermedad o se observe progresión del tumor. Típicamente, el programa de administración dos veces por semana, preferiblemente el programa de administración dos veces por semana como se describe anteriormente, se aplica de 4 a 156 veces, tal como aproximadamente 4 veces, aproximadamente 8 veces, aproximadamente 16 veces, aproximadamente 24 veces, aproximadamente 35 veces, aproximadamente 70 veces o aproximadamente 104 veces.

El esquema de administración tres veces por semana puede combinarse parcial o totalmente con radioterapia, preferiblemente radioterapia como se describe en este documento. Preferiblemente, el programa de administración tres veces por semana se combina parcialmente con radioterapia.

Preferiblemente, la cantidad de aproximadamente 2500 mg de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), por semana se administra según un programa de administración de cinco veces a la semana, preferiblemente en cantidades aproximadamente iguales de aproximadamente 500 mg cada una. En el programa de administración cinco veces por semana, la administración se realiza preferiblemente durante cinco días consecutivos, preferiblemente seguido de 2 días sin tratamiento. Este programa de «5 días de administración consecutivos seguido de 2 días consecutivos sin tratamiento» puede repetirse una o varias veces. Preferiblemente, este programa descrito anteriormente de «5 días de administración consecutivos seguidos de 2 días consecutivos sin tratamiento» se lleva a cabo más de una vez, aunque preferiblemente menos de 18 veces, más preferiblemente de 2 a 12 veces, incluso más preferiblemente de 3 a 8 veces y, especialmente, de 4 a 6 veces, por ejemplo 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 8 veces o 12 veces. En especial, preferiblemente, este programa de «5 días de administración consecutivos seguidos de 2 días consecutivos sin tratamiento» se aplica 6 veces.

Preferiblemente, este programa de «5 días de administración consecutivos seguidos de 2 días consecutivos sin tratamiento» se combina con radioterapia como se describe en este documento, preferiblemente radioterapia como se describe en este documento que se aplica al paciente según un programa análogo de «5 días de administración consecutivos seguidos de 2 días consecutivos sin tratamiento» que probablemente se desarrolla en paralelo al otro programa, preferiblemente con los 2 mismos días sin tratamiento.

Con respecto a las cantidades y/o programas de administración semanales descritos en este documento, el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), se administra preferiblemente en una administración programada como se describe en este documento, generalmente de 1,5 a 20 horas (h), preferiblemente de 2 a 16 h, más preferiblemente de 2 a 12 h, incluso más preferiblemente de 2 a 10 h, incluso más preferiblemente de 3 a 10 h y, especialmente, de 2 a 8 h antes de la aplicación de la radioterapia. Alternativamente, el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se administran en una administración programada como se describe en este documento, preferiblemente de 1 a 10 horas (h), preferiblemente de 1 a 6, más preferiblemente de 2 a 8, incluso más preferiblemente de 3 a 8 h, incluso más preferiblemente de 3 a 6 y, especialmente, de 4 a 8 h antes de la aplicación de la radioterapia.

Según la invención, el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y, opcionalmente al menos un agente antineoplásico coterapéutico adicional diferente de al menos un ligando específico de integrinas seleccionado entre temozolomida y radioterapia, preferiblemente radioterapia como se describe en este documento, se administra preferiblemente a un paciente que necesita del mismo según la dosis/modo de administración/pauta posológica siguiente:

El ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra preferiblemente en una dosis fija de aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg por administración, preferiblemente en un programa de administración semanal seleccionado a partir de un programa de administración de dos veces por semana, un programa de administración de tres veces por semana y un programa de administración de cinco veces por semana, preferiblemente como se describe en este documento, más preferiblemente en el programa de administración de dos veces por semana, cuyo programa de administración se repite preferiblemente al menos una vez, más preferiblemente al menos dos veces, más preferiblemente al menos 5 veces e incluso más

- preferiblemente al menos 35 veces. Preferiblemente, se repite menos de 150 veces, más preferiblemente menos de 100 veces, al menos si se administra sin pausa, interrupción o espacio de al menos una semana, preferiblemente de al menos cuatro semanas. Tras esta pausa, espacio o interrupción, el programa de administración descrito anteriormente puede repetirse una o varias veces, si es necesario. Por consiguiente, el programa de administración descrito anteriormente se aplica preferiblemente al paciente durante al menos 2 semanas, preferiblemente al menos 6 semanas, más preferiblemente al menos 12 semanas, incluso más preferiblemente al menos 24 semanas y especialmente al menos 35 semanas, por ejemplo, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 35 semanas, aproximadamente 36 semanas, aproximadamente 72 semanas y aproximadamente 120 semanas. El programa de administración descrito anteriormente, el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), se administra preferiblemente. En el programa de administración descrito anteriormente, el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra preferiblemente por infusión i.v. dos veces por semana, preferiblemente los días 1 y 4, p. ej., lunes y jueves o martes y viernes, preferiblemente durante 35 semanas o al menos 35 semanas sin pausa. En el programa de administración descrito anteriormente, la administración puede continuar hasta que se produzca la progresión del tumor, la estabilización de la enfermedad estable o la curación. Preferiblemente, la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), se inicia el día 1 de cada semana.
- Preferiblemente, la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), se combina, parcial o totalmente, preferiblemente de forma parcial, con la administración de al menos otro agente antineoplásico coterapéutico adicional diferente de al menos un ligando específico de integrinas, en el que el agente antineoplásico coterapéutico adicional se selecciona entre temozolomida y radioterapia.
- Preferiblemente, la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), se combina parcial o totalmente, preferiblemente de forma parcial, con la administración o suministro de radioterapia, preferiblemente radiación de haz externo y especialmente radioterapia focal. Preferiblemente, la radioterapia se administra o aplica durante uno o más días en una o más semanas en las que el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-DPhe-NMeVal), se administra según un programa de administración semanal, preferiblemente un programa de administración semanal como se describe en este documento. Más preferiblemente, la radioterapia se administra o aplica durante uno o más días en una o más semanas en las que el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-DPhe-NMeVal), se administra según un programa de administración semanal, preferiblemente un programa de administración de dos veces por semana. La radioterapia, preferiblemente radiación de haz externo y especialmente radioterapia focal, se administra o aplica preferiblemente durante un periodo de tiempo de 1 a 12 semanas, preferiblemente de 2 a 10 semanas, más preferiblemente de 3 a 8 semanas y especialmente de 4 a 6 semanas, por ejemplo, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas o aproximadamente 9 semanas, con una administración o suministro de 1 a 7 días, preferiblemente de 2 a 6 días y especialmente de 3 a 5 días, por ejemplo, 2 días, 3 días, 5 días o 7 días a la semana.
- Preferiblemente, la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), se combinan, parcial o totalmente, preferiblemente de forma parcial, con la administración o aplicación de radioterapia focal, en la que se administran o aplican al paciente de 40 a 70 Gray (Gy), preferiblemente de 50 a 66 Gy, más preferiblemente de 55 a 62 Gy, por ejemplo, aproximadamente 58 Gy, aproximadamente 60 Gy o aproximadamente 65 Gy, preferiblemente en fracciones de 0,5 a 5 Gy, más preferiblemente de 1 a 3 Gy y, especialmente de 1,5 a 2,5 Gy, por ejemplo, aproximadamente 1,3 Gy, aproximadamente 1,6 Gy, aproximadamente 1,8 Gy, aproximadamente 2,0 Gy o aproximadamente 2,2 Gy por administración o aplicación, que preferiblemente también es la cantidad de radiación diaria en la que la administración o aplicación de la radiación tiene lugar. Por consiguiente, se prefiere la administración o aplicación de 1,5 a 2,5 Gy y, preferiblemente 1,8 a 2,2 Gy al día durante 5 días en una semana, incluso más preferiblemente 5 días consecutivos en una semana. Se prefiere la clase de aplicación de radioterapia focal descrita anteriormente en el tratamiento de tumores cerebrales primarios, incluyendo astrocitoma, preferiblemente astrocitoma de grado III y/o grado IV y, especialmente, GBM.
- Alternativamente, la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), se combina, parcial o totalmente, preferiblemente de forma parcial, con la administración o aplicación de radioterapia focal, en la que se administran o aplican al paciente de 20 a 50 Gray (Gy), preferiblemente de 25 a 40 Gy, más preferiblemente de 28 a 25 Gy, por ejemplo, aproximadamente 28 Gy, aproximadamente 30 Gy o aproximadamente 35 Gy, preferiblemente en fracciones de 0,5 a 5 Gy, más preferiblemente de 0,8 a 3 Gy y, especialmente de 1 a 2,5 Gy, por

ejemplo, aproximadamente 1,0 Gy, aproximadamente 1,3 Gy, aproximadamente 1,6 Gy, aproximadamente 1,8 Gy, aproximadamente 2,0 Gy, aproximadamente 2,5 Gy o aproximadamente 3,0 Gy, por administración o aplicación, que preferiblemente también es la cantidad de radiación diaria en la que la administración o aplicación de la radiación tiene lugar. Por consiguiente, se prefiere la administración o aplicación de 1,5 a 2,5 Gy y, preferiblemente de 1,8 a 2,2 Gy al día durante 2 o 3 días en una semana. Por consiguiente, también se prefiere una administración o aplicación de 0,7 a 1,3 Gy y, preferiblemente de 0,9 a 1,2 Gy al día durante de 3 a 6 días, preferiblemente durante 5 días y, más preferiblemente, durante 5 días consecutivos en una semana. Generalmente, se prefiere especialmente la administración o aplicación de 1,0 a 3,0 Gy, preferiblemente aproximadamente 1,0 Gy, aproximadamente 2,0 Gy o aproximadamente 3,0 Gy al día 2 o 3 días en una semana. Se prefiere el tipo de aplicación de radioterapia focal como se describe anteriormente en el tratamiento de metástasis cerebrales, preferiblemente metástasis cerebrales de tipos de cánceres seleccionados entre el grupo compuesto por cáncer de pulmón microcítico y cáncer de pulmón no microcítico, preferiblemente cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama, melanoma metastásico, cáncer de próstata independiente de andrógenos metastásico y cáncer de próstata dependiente de andrógenos metastásico.

Típicamente, ambas cantidades de aproximadamente 30 Gy y aproximadamente 60 Gy se administran o aplican al paciente durante aproximadamente seis semanas consecutivas.

Un objeto especialmente preferido de la presente invención se refiere al uso de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) en un método para el tratamiento de astrocitoma en combinación con temozolomida y radioterapia.

Preferiblemente, el astrocitoma es glioblastoma o glioblastoma multiforme.

Preferiblemente, la radioterapia es radicación de haz externo fraccionada.

Especialmente preferido, dicho ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se aplica sustancialmente de forma concurrente o secuencial a la temozolomida y/o a la radioterapia.

Incluso más preferiblemente, dicho ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra de 1 a 8 horas (h) antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

Incluso más preferiblemente, dicho ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra de 2 a 6 horas antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

Por consiguiente, se prefiere un método de tratamiento (A), que comprende por paciente durante una semana:

a) la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), en un programa de administración dos veces a la semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por administración; y

b) la administración o aplicación una vez al día de radioterapia focal fraccionada de 1,5 a 2,5 Gy por fracción, de 2 a 7 días, preferiblemente de 3 a 6 días, más preferiblemente durante 5 días y especialmente preferido 5 días consecutivos durante una semana;

donde dicho tratamiento se aplica preferiblemente al paciente durante al menos 2 semanas, más preferiblemente durante al menos 2 semanas consecutivas, incluso más preferiblemente durante al menos 4 semanas consecutivas y especialmente durante 6 o más semanas consecutivas, pero generalmente durante menos de 13 semanas consecutivas, preferiblemente menos de 11 semanas consecutivas e incluso más preferiblemente menos de 9 semanas consecutivas, por ejemplo, una aplicación durante 2 semanas consecutivas, 4 semanas consecutivas, 5 semanas consecutivas, 6 semanas consecutivas, 7 semanas consecutivas o 10 semanas consecutivas.

Con respecto a este método, dicho ligando específico de integrinas se administra preferiblemente los días en los que se administra o aplica al paciente la radiación focal fraccionada, administrada preferiblemente según una administración programada como se describe en este documento. Con respecto a este método, dicho ligando específico de integrinas se administra preferiblemente según una administración programada como se describe en este documento, más preferiblemente de 1,5 a 20 horas (h), preferiblemente de 2 a 16 h, más preferiblemente de 2 a 12 h, incluso más preferiblemente de 2 a 10 h, incluso más preferiblemente de 3 a 10 h y especialmente de 2 a 8 h antes de la aplicación de la radioterapia.

El método de tratamiento descrito anteriormente es especialmente ventajoso para el tratamiento de tumores o cánceres seleccionados entre astrocitoma, preferiblemente astrocitoma de grado II, III y/o IV o glioblastoma, preferiblemente glioblastoma multiforme.

El método de tratamiento descrito anteriormente puede combinarse opcionalmente con la administración adicional de uno o más ligandos específicos de integrinas descritos en este documento distintos a ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ligandos específicos de integrinas seleccionados entre el grupo compuesto por LM609, Vitaxin, Abegrin, abciximab, P1F6, 14D9.F8 y CNTO95, más preferiblemente Vitaxin, Abegrin, CNTO95 y abciximab, y/o la administración adicional de al menos un agente antineoplásico coterapéutico como se describe en este documento distinto de radioterapia, preferiblemente al menos un agente antineoplásico coterapéutico seleccionado entre el grupo compuestos por cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, 5-FU, dacarbazina, procarbazona, vinblastina, vincristina, irinotecán, paclitaxel, docetaxel, gemcitabina, gleevec, iressa, tarceva y nexavar, seleccionado incluso más preferiblemente entre cisplatino, oxaliplatino, vinblastina, taxol, gemcitabina, gleevec e iressa, y/o seleccionado entre el grupo compuesto por Herceptin, bevacizumab (rhuMAB-VEGF, Avastin®), cetuximab (Erbix®) y nimotuzumab, y preferiblemente sorafenib (Nexavar®), sunitinib (Sutent®) y ZD6474 (ZACTIMA™).

Por consiguiente, se prefiere un método de tratamiento (B), que comprende por paciente durante una semana:

- a) la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), en un programa de administración dos veces a la semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por administración; y
- b) la administración o aplicación una vez al día de radioterapia focal fraccionada de 1,5 a 2,5 Gy por fracción, preferiblemente de 2 a 5 días en una semana, más preferiblemente durante 5 días consecutivos en una semana;
- c) la administración de temozolomida de 2 a 7 días, preferiblemente de 3 a 6 días, más preferiblemente 5 días y especialmente preferido durante 5 días consecutivos de una semana, preferiblemente en una cantidad al día de 25 a 250 mg/m², más preferiblemente de 50 a 150 mg/m², incluso más preferiblemente de 65 a 100 mg/m² y especialmente aproximadamente 75 mg/m²;

donde dicho método de tratamiento se aplica preferiblemente al paciente durante al menos 2 semanas, más preferiblemente durante al menos 2 semanas consecutivas, incluso más preferiblemente durante al menos 4 semanas consecutivas y especialmente durante 6 o más semanas consecutivas, pero generalmente durante menos de 13 semanas consecutivas, preferiblemente menos de 11 semanas consecutivas e incluso más preferiblemente menos de 9 semanas consecutivas, por ejemplo, una aplicación durante 2 semanas consecutivas, 4 semanas consecutivas, 5 semanas consecutivas, 6 semanas consecutivas, 7 semanas consecutivas o 10 semanas consecutivas.

Con respecto a este método, dicho ligando específico de integrinas se administra preferiblemente los días en los que se administra o aplica al paciente la radiación focal fraccionada, administrada preferiblemente según una administración programada como se describe en este documento. Con respecto a este método, dicho ligando específico de integrinas se administra más preferiblemente según una administración programada como se describe en este documento, más preferiblemente de 1,5 a 20 horas (h), preferiblemente de 2 a 16 h, más preferiblemente de 2 a 12 h, incluso más preferiblemente de 2 a 10 h, incluso más preferiblemente de 3 a 10 h y especialmente de 2 a 8 h antes de la aplicación de la radioterapia. Con respecto a este método, la temozolomida se administra preferiblemente por vía oral, preferiblemente de 15 a 300 minutos, más preferiblemente de 30 a 180 minutos, incluso más preferiblemente de 45 a 90 minutos y especialmente aproximadamente una hora o menos de una hora antes de la administración o aplicación de la radioterapia. Este programa de administración para agentes antineoplásicos coterapéuticos distintos de la radioterapia, seleccionados entre temozolomida, también es preferiblemente adecuada para los otros métodos o usos descritos en este documento.

El método de tratamiento descrito anteriormente es especialmente ventajoso en el tratamiento de tumores o cáncer como se describe en este documento, preferiblemente tumores o cáncer del grupo compuesto por tumores cerebrales primarios, astrocitoma, preferiblemente astrocitoma de grados II, III y/o IV, glioblastoma, preferiblemente glioblastoma multiforme, y metástasis cerebrales de otros tipos de cánceres, preferiblemente seleccionados entre el grupo compuesto por cáncer de pulmón microcítico y no microcítico, preferiblemente cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama, melanoma metastásico, cáncer de próstata independiente de andrógenos metastásico y cáncer de próstata dependiente de andrógenos metastásico.

Por consiguiente, se prefiere un método de tratamiento (C), que comprende por paciente durante una semana:

- a) opcionalmente la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), preferiblemente como agente único, en un programa de administración dos veces a la semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por

administración, en el que el programa de administración semanal se aplica al paciente durante al menos una semana, preferiblemente de 1 a 12 semanas, más preferiblemente de 1 a 6 semanas, incluso más preferiblemente de 1 a 3 semanas y especialmente de 1 o 2 semanas; seguido, preferiblemente, en las semanas consecutivas, por

- 5 b) la administración de temozolomida de 2 a 7 días, preferiblemente de 3 a 6 días, más preferiblemente 5 días y especialmente preferido 5 días consecutivos en una semana, preferiblemente en una cantidad de 50 a 350 mg/m², más preferiblemente de 75 a 250 mg/m², incluso más preferiblemente de 150 a 250 mg/m², y especialmente, aproximadamente 200 mg/m², preferiblemente combinado dentro de dicha semana con la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) en un programa de administración dos veces por semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por administración,

10 en el que el paso b) se aplica al paciente al menos una vez, preferiblemente de 1 a 12 semanas consecutivamente, más preferiblemente de 1 a 6 semanas consecutivamente, incluso más preferiblemente de 1 a 3 semanas consecutivamente y especialmente una semana o 2 semanas consecutivamente;

y en el que dicho ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra preferiblemente los días en los que también se administra la temozolomida; seguido opcionalmente, preferiblemente en las semanas consecutivas, por,

- 20 c) la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), preferiblemente como agente único, en un programa de administración dos veces a la semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por administración, en el que el programa de administración semanal se aplica al paciente durante al menos una semana, preferiblemente de 1 a 12 semanas, más preferiblemente de 2 a 6 semanas, incluso más preferiblemente de 2 a 4 semanas y especialmente 3 semanas.

Preferiblemente, dicho método de tratamiento se aplica preferiblemente al paciente al menos una vez, más preferiblemente al menos dos veces, incluso más preferiblemente al menos cuatro veces y especialmente preferido seis o más veces, preferiblemente seis veces, pero generalmente menos de 13 veces, preferiblemente menos de 9 veces, incluso más preferiblemente menos de siete veces, por ejemplo, 3 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces o 6 veces, preferiblemente consecutivamente, es decir, sin una o más pausas entre la repetición del método.

Con respecto a este método, dicho ligando específico de integrinas se administra más preferiblemente según una administración programada como se describe en este documento, más preferiblemente de 1,5 a 20 horas (h), preferiblemente de 2 a 16 h, más preferiblemente de 2 a 12 h, incluso más preferiblemente de 2 a 10 h, incluso más preferiblemente de 3 a 10 h y especialmente de 2 a 8 h antes de la aplicación de la radioterapia. Con respecto a este método, la temozolomida se administra preferiblemente por vía oral, preferiblemente de forma análoga a como se describe en este documento para la administración programada del ligando específico de integrinas, o preferiblemente 5 h, preferiblemente 3 h y especialmente 1 h antes o después, preferiblemente después de la aplicación de la radioterapia.

40 El método de tratamiento descrito anteriormente (C) es especialmente ventajoso para el tratamiento de tumores o cáncer seleccionados entre astrocitoma, preferiblemente astrocitomas de grado II, III y/o IV o glioblastoma, preferiblemente glioblastoma multiforme.

Por consiguiente, se prefiere un método de tratamiento (D), que comprende por paciente:

- 45 a) dentro de una primera semana: la administración de temozolomida de 2 a 7 días, preferiblemente de 3 a 6 días, más preferiblemente 5 días y especialmente preferible 5 días consecutivos, preferiblemente en una cantidad diaria de 50 a 350 mg/m², más preferiblemente de 75 a 250 mg/m², incluso más preferiblemente de 150 a 250 mg/m² y especialmente aproximadamente 200 mg/m²; combinada durante dicha semana con la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismos, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) en un programa de administración dos veces a la semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por administración,

- 50 b) y en las semanas 2, 3 y 4 directamente siguientes: la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), preferiblemente como agente único, en un programa de administración dos veces

a la semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por administración.

Preferiblemente, dicho método de tratamiento (D) se aplica al paciente al menos una vez, más preferiblemente al menos dos veces, incluso más preferiblemente al menos cuatro veces y especialmente seis o más veces, pero generalmente menos de 24 veces, preferiblemente menos de 15 veces, más preferiblemente menos de 11 veces, por ejemplo 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces o 12 veces, preferiblemente al menos si se administra sin pausa, interrupción o descanso de al menos una semana, preferiblemente al menos cuatro semanas. Tras esta pausa, descanso o interrupción, el programa de administración descrito anteriormente puede repetirse una o varias veces, si es necesario.

Con respecto a este método, dicho ligando específico de integrinas se administra más preferiblemente según una administración programada como se describe en este documento, más preferiblemente de 1,5 a 20 horas (h), preferiblemente de 2 a 16 h, más preferiblemente de 2 a 12 h, incluso más preferiblemente de 2 a 10 h, incluso más preferiblemente de 3 a 10 h y especialmente de 2 a 8 h antes de la aplicación de la radioterapia. Con respecto a este método, la temozolomida se administra preferiblemente por vía oral, preferiblemente de forma análoga a como se describe en este documento para la administración programada del ligando específico de integrinas, o preferiblemente 5 h, preferiblemente 3 h y especialmente 1 h antes o después, preferiblemente después de la aplicación de la radioterapia.

El método de tratamiento descrito anteriormente (D) puede opcionalmente combinarse con una o más semanas de tratamiento, que comprende la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), a un paciente, preferiblemente como agente único, en un programa de administración dos veces a la semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por administración, antes, preferiblemente directamente antes, y/o tras, preferiblemente directamente tras el método de tratamiento descrito anteriormente (D). Preferiblemente, el método de tratamiento (D) se combina con una o más semanas de tratamiento adicional, que comprende la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), a un paciente, preferiblemente como agente único, en un programa de administración dos veces a la semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por administración, al menos en la semana directamente anterior a la primera semana del método de tratamiento (D) y/o al menos una semana de dicho tratamiento adicional (con o sin pausas), por ejemplo hasta que se produzca la progresión, la estabilización de la enfermedad o la curación.

El método de tratamiento descrito anteriormente (D) es especialmente ventajoso para el tratamiento de tumores o cáncer seleccionados entre astrocitoma, preferiblemente astrocitomas de grado II, III y/o IV o glioblastoma, preferiblemente glioblastoma multiforme.

Se prefiere el método de tratamiento (E) que comprende la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), a un paciente, preferiblemente como agente único, en un programa de administración dos veces a la semana que comprende aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg (fijos) de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) por administración, preferiblemente durante una semana o durante al menos dos semanas consecutivas.

Si el método de tratamiento (E) se aplica durante dos o más semanas consecutivas, se aplica preferiblemente al paciente al menos durante cuatro semanas consecutivas, más preferiblemente al menos durante seis semanas consecutivas, por ejemplo, hasta que se produce progresión del tumor, estabilización de la enfermedad o curación. Preferiblemente, el método de tratamiento (E) se combina con uno o más de los métodos de tratamiento (A), (B), (C) y/o (D) descritos anteriormente y a continuación. Si el método de tratamiento (E) se combina con uno o más de los métodos de tratamiento (A), (B), (C) y/o (D) descritos anteriormente y a continuación, este se aplica preferiblemente con antelación o al final de dichos métodos de tratamiento (A), (B), (C) y/o (D), o tanto con antelación como al final de dichos métodos. A continuación se proporcionan las combinaciones preferidas que incluyen uno o más métodos de tratamiento (A), (B), (C) y/o (D) y, adicionalmente, el método de tratamiento (E).

Se prefiere un método de tratamiento en el que se combinan dos o más de los regímenes de tratamiento, programas de administración y/o métodos de tratamiento descritos en este documento. Más preferido es un método de tratamiento que comprende dos o más de los métodos de tratamiento (A), (B), (C), (D), (E) y/o (F) descritos anteriormente o a continuación, que incluye preferiblemente una o más de las opciones preferidas como se describe con respecto al método (A), (B), (C), (D), (E) y/o (F) respectivo. Especialmente preferido es un método de tratamiento que comprende tres o más de los métodos de tratamiento (A), (B), (C), (D), (E) y/o (F) descritos anteriormente o a continuación, que incluye preferiblemente una o más de las opciones preferidas como se describe con respecto al método (A), (B), (C), (D), (E) y/o (F) respectivo.

Se prefiere un método de tratamiento (A), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 2 a 8 semanas y especialmente 6 semanas, preferiblemente sin pausa.

Se prefiere un método de tratamiento, que comprende o está compuesto por:

5 el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 1 a 4 semanas, preferiblemente sin pausa,

directamente seguido por

10 el método de tratamiento (A), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 2 a 8 semanas y especialmente 6 semanas, preferiblemente sin pausa, opcionalmente directamente seguido por el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante al menos cuatro semanas o preferiblemente hasta que se produzca progresión del cáncer, estabilización de la enfermedad, respuesta parcial/total o curación.

Se prefiere un método de tratamiento, que comprende o está compuesto por:

el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 1 a 4 semanas sin pausa, más preferiblemente aproximadamente durante una semana,

15 directamente seguido por

el método de tratamiento (B), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 2 a 8 semanas y especialmente 6 semanas, preferiblemente sin pausa,

opcionalmente directamente seguido por

20 el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante al menos cuatro semanas, o preferiblemente hasta que se produzca progresión del tumor, estabilización de la enfermedad, respuesta parcial/total o curación.

Se prefiere un método de tratamiento, que comprende o está compuesto por:

el método de tratamiento (B), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 2 a 8 semanas y especialmente 6 semanas, preferiblemente sin pausa,

25 directamente seguido por

el método de tratamiento (D), en el que dicho método se aplica al paciente de 2 a 12 veces, más preferiblemente de 4 a 8 veces y especialmente aproximadamente 6 veces, preferiblemente sin pausa.

Se prefiere un método de tratamiento, que comprende o está compuesto por:

30 el método de tratamiento (B), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 2 a 8 semanas y especialmente 6 semanas, preferiblemente sin pausa,

opcionalmente directamente seguido por

el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante una o más semanas, preferiblemente una semana,

directamente seguido por

35 el método de tratamiento (D), en el que dicho método se aplica al paciente de 2 a 12 veces, más preferiblemente de 4 a 8 veces y especialmente aproximadamente 6 veces, preferiblemente sin pausa.

Se prefiere un método de tratamiento, que comprende o está compuesto por:

el método de tratamiento (B), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 2 a 8 semanas y especialmente 6 semanas, preferiblemente sin pausa,

directamente seguido por

el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante una o más semanas, preferiblemente una semana,

directamente seguido por

- 5 el método de tratamiento (D), en el que dicho método se aplica al paciente de 2 a 12 veces, más preferiblemente de 4 a 8 veces y especialmente aproximadamente 6 veces, preferiblemente sin pausa.

Se prefiere un método de tratamiento, que comprende o está compuesto por:

el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 1 a 4 semanas sin pausa, más preferiblemente aproximadamente durante una semana,

- 10 directamente seguido por

el método de tratamiento (B), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 2 a 8 semanas y especialmente 6 semanas, preferiblemente sin pausa,

opcionalmente directamente seguido por

- 15 el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante una o más semanas, preferiblemente una semana,

directamente seguido por

el método de tratamiento (D), en el que dicho método se aplica al paciente de 2 a 12 veces, más preferiblemente de 4 a 8 veces y especialmente aproximadamente 6 veces, preferiblemente sin pausa,

opcionalmente directamente seguido por

- 20 el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante al menos 4 semanas, o preferiblemente hasta que se produzca progresión, estabilización de la enfermedad, respuesta parcial/total o curación.

Se prefiere un método de tratamiento, que comprende o está compuesto por:

- 25 el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 1 a 4 semanas sin pausa, más preferiblemente aproximadamente durante una semana,

directamente seguido por

el método de tratamiento (B), en el que dicho método se aplica al paciente durante de 2 a 8 semanas y especialmente 6 semanas, preferiblemente sin pausa,

directamente seguido por

- 30 el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante una o más semanas, preferiblemente una semana,

directamente seguido por

el método de tratamiento (D), en el que dicho método se aplica al paciente de 2 a 12 veces, más preferiblemente de 4 a 8 veces y especialmente aproximadamente 6 veces, preferiblemente sin pausa,

- 35 opcionalmente directamente seguido por

el método de tratamiento (E), en el que dicho método se aplica al paciente durante al menos 4 semanas, o preferiblemente hasta que se produzca progresión, estabilización de la enfermedad, respuesta parcial/total o curación.

Un objeto preferido de la presente invención se refiere a un método o un uso según la invención, en el que dicho ligando específico de integrinas se administra preferiblemente los días en los que se administra o aplica la radiación focal fraccionada al paciente y preferiblemente en el que la administración es una administración programada como se describe en este documento.

- 5 Más preferiblemente, la radioterapia se administra o aplica uno o más días en los que también se lleva a cabo la administración del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferiblemente ciclo-(Arg-Gly-DPhe-NMeVal).

Por tanto, se prefiere un método para el tratamiento de astrocitoma en el que:

- 10 a) en la semana 1 se administra opcionalmente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) a un paciente en un programa de administración semanal como se describe en este documento,
- b) en las semanas 2-7 se aplica al paciente al menos un agente antineoplásico coterapéutico como se describe en este documento, preferiblemente seleccionado entre agentes quimioterapéuticos y radioterapia como se describe en este documento, junto con la administración de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) en un programa de administración semanal como se describe en este documento,
- 15 c) en las semanas 8-11 se administra ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) a un paciente en un programa de administración semanal como se describe en este documento,
- d) en las semanas 12-35 se administra ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) al paciente en un programa de administración semanal como se describe en este documento, suplementado cada cuarta semana con la administración de un agente antineoplásico coterapéutico distinto de radioterapia, preferiblemente el agente quimioterapéutico del paso b), en el que el agente antineoplásico coterapéutico distinto de radioterapia se administra preferiblemente las semanas 12, 16, 20, 24, 28 y 32.
- 20

Se prefiere una administración programada como se describe en este documento para ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) durante las semanas 2-7. El agente antineoplásico coterapéutico distinto de radioterapia aplicado en los pasos b) y c) se selecciona entre temozolomida.

25 Por tanto, se prefiere un método para el tratamiento de astrocitoma en el que:

- d) en la semana 1 se administra opcionalmente ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) a un paciente en un programa de administración semanal como se describe en este documento,
- e) en las semanas 2-7 se aplica al paciente radioterapia como se describe en este documento, preferiblemente radioterapia fraccionada o focal como se describe en este documento, preferiblemente junto con la administración de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) en un programa de administración semanal como se describe en este documento y junto con al menos un agente quimioterapéutico,
- 30 f) en las semanas 8-11 se administra ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) a un paciente en un programa de administración semanal como se describe en este documento,
- e) en las semanas 12-35 se administra ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) al paciente en un esquema de administración semanal como se describe en este documento, suplementado cada cuarta semana con la administración de al menos un agente quimioterapéutico del paso b), en el que dicho agente quimioterapéutico se administra preferiblemente las semanas 12, 16, 20, 24, 28 y 32.
- 35

En este método de tratamiento, al menos un agente quimioterapéutico se selecciona entre temozolomida. Se prefiere una administración programada como se describe en este documento para ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) durante las semanas 2-7.

40

Se prefiere un método de tratamiento (F), que comprende o consta preferiblemente los siguientes pasos o tratamientos:

- ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra a una dosis fija de aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg por i.v. dos veces a la semana (preferiblemente los días 1 y 4, por ejemplo, lunes y jueves o martes y viernes) durante 35 semanas, preferiblemente sin pausa. El tratamiento con ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se inicia preferiblemente el día 1 de cada semana;
 - Tratamiento adicional (1) (semanas 2-7 (máx. de 7 semanas));
- 45

Empezando el día 1 de la semana 2, el tratamiento con TMZ y RT se administrará además del ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) como sigue:

Temozolomida (TMZ) se administra por vía oral durante 6 semanas, a una dosis diaria de aproximadamente 75 mg/m² (7 días por semana),

- 5 La radioterapia (RT) focal se aplica durante 6 semanas, preferiblemente una vez al día a aproximadamente 2 Gy por fracción, 5 días consecutivos/semana, hasta un total de aproximadamente 60 Gy. (prescrito preferiblemente según las directrices de la Comisión Internacional de Unidades Radiológicas). Pueden utilizarse máscaras de inmovilización adecuadas para asegurar la reproducibilidad. El volumen de tratamiento puede determinarse opcionalmente en función de la RM-Gd cerebral preoperatoria. El volumen de tratamiento incluye preferiblemente la
10 lesión realzada con contraste según se determina por la RM-Gd, preferiblemente más un margen de 2 a 3 cm alrededor de esta lesión.

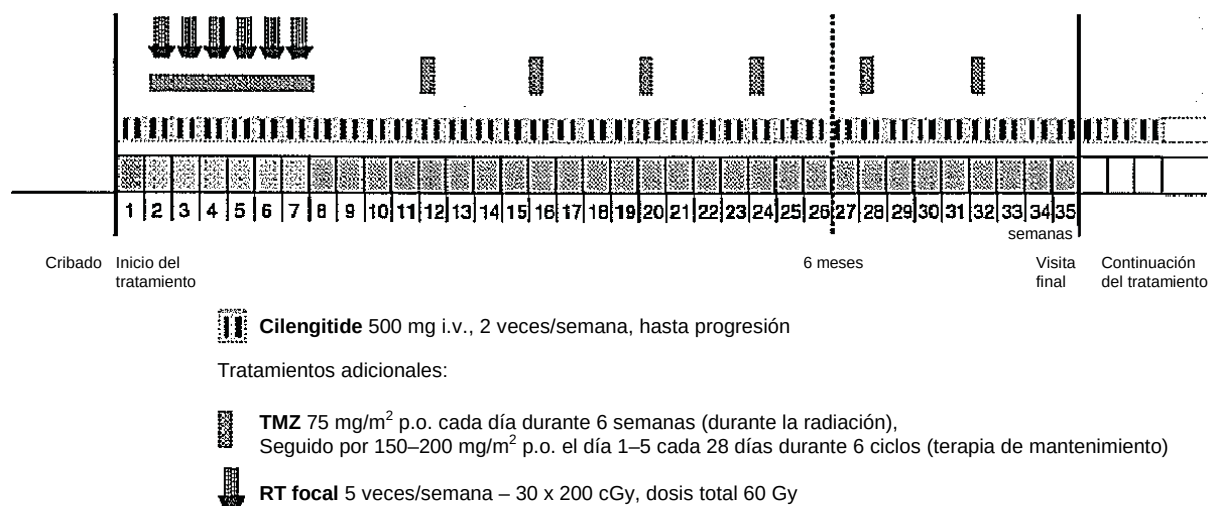
- Tratamiento adicional (2) (semanas 8-35):

- 15 Empezando 4 semanas después del final de la RT (es decir, en la semana 12), concomitante al tratamiento con Cilengitide, los pacientes reciben quimioterapia con TMZ a dosis de 150-200 mg/m² diariamente durante 5 días (preferiblemente los días del 1 al 5 de una semana de tratamiento determinado) cada 4 semanas (es decir, semanas 12, 16, 20, 24, 28 y 32) durante un máximo de 6 ciclos.

- En este método de tratamiento (F), se administra ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) preferiblemente en una administración programada como se describe en este documento, preferiblemente con respecto a la administración de la RT y/o la TMZ; por ejemplo, se administra ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) aproximadamente 3 horas (h) (= inicio de la infusión de aproximadamente 1 hora) antes de la aplicación de la RT; y TMZ es preferiblemente tras la administración de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), aunque preferiblemente antes de la aplicación de la RT, más preferiblemente en las dos horas anteriores a la aplicación de la RT, incluso más preferiblemente aproximadamente una hora antes de la administración de la RT y especialmente aproximadamente una hora antes de la administración de la RT. Sin embargo, también puede ser opcionalmente adecuado administrar la TMZ aproximadamente en la hora posterior a la aplicación de la RT.
25

Sin embargo, el programa de 35 semanas del método de tratamiento (F) puede terminarse o acortarse si se producen efectos adversos inaceptables, una progresión temprana, estabilización de la enfermedad o curación.

En el esquema que aparece a continuación se muestra un método preferido de tratamiento:



- 30 Cilengitide (EMD121.974) y temozolomida con radioterapia concomitante, seguido de tratamiento de mantenimiento con Cilengitide y temozolomida en pacientes que necesitan el tratamiento, como en pacientes recién diagnosticados de glioblastoma.

Los métodos de tratamiento descritos en este documento y especialmente los métodos de tratamiento de (A) a (F) como se describen anteriormente, pueden ir seguidos opcionalmente de un tratamiento continuado que comprende ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), preferiblemente un tratamiento continuado como el que se proporciona a continuación:

- 5 Los pacientes que completan las 35 semanas de tratamiento sin progresión y preferiblemente, aquellos para los que, p ej., el médico, considera beneficioso el tratamiento con ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), pueden continuar el tratamiento con ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) (dos veces por semana aproximadamente 500 mg o aproximadamente 2000 mg, i. v.). Por consiguiente, después de las primeras 35 semanas de tratamiento, dicho tratamiento con ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) puede continuar hasta que se produzca progresión, 10 estabilización de la enfermedad, curación o efectos adversos inaceptables.

Se prefieren los métodos de tratamiento descritos en este documento y preferiblemente uno o más de los métodos de tratamiento, preferiblemente seleccionados entre el grupo compuesto por método de tratamiento (A), método de tratamiento (B), método de tratamiento (C), método de tratamiento (D), método de tratamiento (E), método de 15 tratamiento (F) y combinaciones de los mismos, en el que el programa de administración dos veces a la semana con respecto a ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o derivados, solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se sustituye por un esquema de administración tres veces a la semana, preferiblemente un esquema de administración tres veces a la semana como se describe en este documento, o un esquema de administración cinco veces a la semana, preferiblemente un esquema de administración cinco veces a la semana como se describe en este documento. Estos métodos preferidos pueden aplicarse de forma ventajosa a pacientes que no pertenecen al 20 grupo de «pacientes metilados» según la invención. Los criterios para los «pacientes metilados» se proporcionan y describen en detalle a continuación. Preferiblemente, los pacientes no pertenecen al grupo de «pacientes metilados» que pueden no mostrar un aumento en el estado de metilación de ADN, metilación parcial o completa de al menos un promotor de al menos un gen MGMT y/o solo un nivel moderado de proteína MGMT, o preferiblemente menos, en comparación con el nivel de proteína MGMT expresado por los linfocitos normales.

25 Un objeto especialmente preferido de la presente invención es el uso de un ligando específico de integrinas seleccionado entre el grupo compuesto por ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo y, especialmente el uso de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) para la fabricación de un medicamento utilizado en los métodos de tratamiento descritos en este documento, y especialmente para la fabricación de un medicamento utilizado en uno o más de los métodos de tratamiento, 30 seleccionado preferiblemente entre el grupo compuesto por el método de tratamiento (A), el método de tratamiento (B), el método de tratamiento (C), el método de tratamiento (D), el método de tratamiento (E), el método de tratamiento (F) y combinaciones de los mismos.

Si se aplica radioterapia focal fraccionada con respecto a las metástasis cerebrales, preferiblemente metástasis cerebrales de otros tipos de cáncer como se describe en este documento, esta consiste preferiblemente en 35 aproximadamente de 25 a 45 Gy, más preferiblemente de 30 a 40 Gy, preferiblemente administrados en fracciones de 1,5 a 3,5 Gy, más preferiblemente de 1,8 a 3 Gy, por ejemplo, aproximadamente 2 Gy o aproximadamente 3 Gy, preferiblemente durante un periodo de aproximadamente tres semanas, preferiblemente 5 días por semana.

Se prefiere un método de irradiación profiláctica, preferiblemente irradiación profiláctica del cráneo o irradiación profiláctica del mediastino, que comprende administrar al menos un ligando específico de integrinas, más 40 preferiblemente al menos un ligando específico de integrinas, como se describe en este documento, que comprende ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y en especial preferiblemente compuesto por ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y radioterapia, preferiblemente radioterapia focal fraccionada como se describe en este documento.

En todos los métodos de tratamiento proporcionados anteriormente o métodos de irradiación profiláctica, se prefiere 45 una administración programada de la menos un ligando específico de integrinas.

Con respecto a los métodos de tratamiento, las cantidades administradas y/o los programas de administración descritos en este documento con respecto al ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), las 50 cantidades de (aproximadamente) 500 mg o (aproximadamente) 1000 mg que se van a administrar en cada administración, así como las cantidades de (aproximadamente) 1000 mg, (aproximadamente) 1500 mg, (aproximadamente) 2000 mg, (aproximadamente) 2500 mg, (aproximadamente) 4000 mg y (aproximadamente) 6000 mg proporcionados para los programas de administración semanales se calculan preferiblemente para el compuesto ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) como tal (también denominada sal interna o interior de ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal)). Por consiguiente, si se va a administrar al paciente una forma diferente, como las sales y 55 solvatos farmacéuticamente aceptables del ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), este se administra preferiblemente en una cantidad equimolar a las cantidades proporcionadas anteriormente para el compuesto ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) como tal.

El ligando específico de integrinas utilizado según la invención muestra sorprendentemente un efecto de mejora ventajoso en pacientes con un aumento en el estado de metilación del ADN, con una metilación parcial o completa de al menos un promotor de al menos un gen de MGMT y/o con un nivel anómalo de proteína MGMT, especialmente un nivel anormalmente bajo de proteína MGMT. Por consiguiente, la invención proporciona el uso de medicamentos que pueden usarse de forma ventajosa para tratar pacientes asociados con uno o más de los efectos o defectos mencionados anteriormente.

Por tanto, el objeto de la presente invención es un medicamento como se describe en este documento para su uso en el tratamiento de pacientes, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de pacientes que presentan un aumento en el estado de metilación del ADN, pacientes que muestran una metilación parcial o completa de al menos un promotor de al menos un gen de MGMT y/o pacientes con un nivel anómalo de proteína MGMT, especialmente un nivel anormalmente bajo de proteína MGMT. Preferiblemente, estos pacientes se denominan «pacientes metilados».

Estos temas se discuten con más detalle a continuación:

La metilación del gen reparador del ADN, O⁶-metilguanina-ADN-metiltransferasa (MGMT), denominado más correctamente gen reparador O⁶-metilguanina-ADN-metiltransferasa o gen reparador MGMT corto, causa el silenciamiento de genes. Esta modificación epigenética se ha asociado con un pronóstico favorable en pacientes con muchos tipos de cánceres diferentes, como glioblastoma (GBM), que reciben tratamiento con agentes alquilantes, por ejemplo, mostazas nitrogenadas, compuestos de etilenimina, sulfonatos de alquilo y otros compuestos con una acción alquilante, preferiblemente seleccionados entre nitrosoureas, preferiblemente ACNU, BCNU y CCNU, busulfán, melfalán, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, ciclofosfamida, dacarbazina, carmustina, ifosfamida y lomustina, temozolomida y altretamina o camptotecina. Por consiguiente, existe una relación entre la metilación del promotor de MGMT y la tasa de supervivencia y la sensibilidad a agentes alquilantes, tales como temozolomida. La enzima MGMT elimina grupos alquilo de la posición O6 de la guanina, el sitio de numerosas alquilaciones de ADN inducidas por la quimioterapia. Estas alquilaciones inducidas por la quimioterapia producen un daño en el ADN de las células tumorales, como rotura y errores en la doble cadena del ADN, lo cual desencadena apoptosis y citotoxicidad [5,6]. La enzima MGMT repara el daño del ADN, lo que interfiere con los efectos terapéuticos de los agentes alquilantes quimioterapéuticos [7-10]. La metilación de regiones discretas de la isla CpG del promotor de MGMT se asocia con el silenciamiento del gen y la disminución de la actividad de reparación de ADN de la enzima [11-13]. Estudios previos han indicado que el 30-40% de los pacientes con GBM presentan metilación del promotor MGMT [1-4].

La metilación del promotor MGMT y, por tanto, el estado de metilación de MGMT puede determinarse de forma ventajosa usando un análisis por PCR específico de metilación en 2 fases sobre ADN extraído de muestras de tumor, como muestras de tumor que se han congelado en nitrógeno líquido durante la cirugía. El análisis por PCR específico de metilación puede realizarse fácilmente según los procedimientos recogidos en la técnica. Preferiblemente pueden realizarse mediante el método de Hegi y col., NEJM, 2005, 352; 997-1003; el método siguiente ha sido utilizado con éxito en un ensayo clínico en fase III en el que se evaluaba el estado de metilación de un subgrupo de los pacientes (tejido disponible):

Extracción de ADN y reacción en cadena de la polimerasa específica de metilación

El ADN genómico se aísla a partir de uno o dos cortes de tejido de glioblastoma en parafina (Kit de extracción de ADN ExWax S4530, Chemicon) (la digestión con proteinasa duró un máximo de seis horas). El ADN se desnaturaliza con hidróxido sódico en un volumen de 35 µl y se somete a tratamiento con bisulfito en un volumen de 360 µl (bisulfito sódico 4,4 M e hidroquinona 20 mM) durante cinco horas a 55°C y, a continuación, se purifica (Wizard DNA Clean-Up System A7280, Promega). Mediante el tratamiento, la citosina no metilada, pero no su equivalente metilado, se transforma en uracilo. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) específica de metilación se realiza según un método en dos etapas. [Palmisano WA, Divine KK, Saccomanno G, y col. *Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum*. *Cancer Res* 2000;60:5954-8].

Los resultados pueden confirmarse en un experimento independiente, empezando con un aislamiento de ADN del tumor. Los productos de PCR se separan en geles de agarosa al 4%. Los investigadores que seleccionaron y analizaron las muestras de glioblastoma desconocían toda la información clínica.

Alternativamente, puede realizarse según el método descrito por Donson y col., en *Journal Pediatric Blood Cancer*, 2006.

Según Donson y col., la metilación/estado de metilación del promotor de MGMT puede determinarse de forma ventajosa según el procedimiento siguiente:

Extracción de ADN y reacción en cadena de la polimerasa específica de metilación

El ADN genómico se aísla del tumor congelado en nitrógeno líquido obtenido durante la cirugía (COMIRB 95-500) y de líneas celulares de GBM usando el kit DNesay (Qiagen, Valencia, CA). Los patrones de metilación de ADN en la isla CpG del gen MGMT se determinan mediante PCR específico de metilación. Este procedimiento supone la transformación química de las citosinas no metiladas a uracilo, pero no de las metiladas, seguido de una PCR anidada en dos etapas [17]. Se desnaturaliza un microgramo de ADN con hidróxido sódico (conc. final, 0,3 M) en un volumen de 55 ml y se somete a tratamiento con bisulfito en un volumen de 610 ml (bisulfito sódico 3,3 M e hidroquinona 0,5 mM) durante 16 h a 55°C y, a continuación, se purifica usando el sistema Wizard DNA Clean-Up (Promega, Madison, WI). Se realiza una PCR para amplificar un fragmento de 289 pb del gen MGMT que incluye una porción de la región del promotor rica en CpG. Los cebadores reconocen el molde modificado con bisulfito aunque no discriminan entre alelos metilados y no metilados. Las secuencias de los cebadores utilizados en la etapa 1 de la ampliación del gen MGMT son las siguientes:

MGMT-etapa 1-adelante, 5'-GGATATGTTGGGATAGTT-3' y MGMT-etapa 1-atrás, 5'-CCAAAAACCCCAAACCC-3', Master Mix (Fermentas, Hanover, MD). El protocolo de amplificación por PCR para la etapa 1 es el siguiente: 95°C durante 10 min, a continuación, desnaturalización a 95°C durante 30 segundos, hibridación a 52°C durante 30 segundos, extensión a 72°C durante 30 segundos durante 40 ciclos seguido de una extensión final de 10 minutos. Se usa un volumen de 25 ml en todas las reacciones de PCR. Los productos de la etapa 1 de la PCR se diluyen 50 veces y 5 ml de esta dilución se somete a una segunda etapa de PCR en la que se usan los cebadores específicos del molde metilado o no metilado. Las secuencias de los cebadores para la etapa 2 de la PCR para la reacción no metilada son MGMT-fase 2-adelante, 5'-TTTGTGTTTTGATGTTTGTAGGTTTTGT-3' y MGMT-etapa 2-atrás 5'-AACTCCACACTCTTCCAAAAACAAAACA-3' y para la reacción metilada MGMT-etapa 2-adelante 5'-TTTCGACGTTCTAGGTTTTCGC-3' y MGMT-etapa 2-atrás 50-GCACTCTTCCGAAAACGAAACG-3'. El protocolo de amplificación por PCR para la etapa 2 es el siguiente: 95°C durante 10 min, a continuación, desnaturalización a 95°C durante 15 segundos, hibridación a 62°C durante 15 segundos, extensión a 72°C durante 15 segundos durante 40 ciclos seguido de una extensión final a 72°C de 10 min. Se usa ADN de linfocitos humanos normales tratados *in vitro* con SssI metiltransferasa (New England Biolabs, Beverly, MA) como control positivo para los alelos metilados de MGMT y se usa ADN no tratado de linfocitos normales como control negativo para los alelos metilados de MGMT. Cada reacción de PCR (10 ml) se carga directamente en un gel de agarosa al 4%, se tiñe con bromuro de etidio y se visualiza mediante iluminación UV. El análisis estadístico puede realizarse con métodos conocidos en la técnica, tales como los métodos de Kaplan-Meier, análisis de correlación y significación estadística, por ejemplo, usando el programa de análisis estadístico Prism (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA).

El análisis del estado de metilación del promotor de la metilguanina-ADN metiltransferasa se realizan en tejido congelado en nitrógeno líquido de los pacientes. El estado de metilación de MGMT puede determinarse con regularidad en los tumores. En una parte de los pacientes, en las muestras en que se comprobó el estado de metilación del promotor MGMT se demostró que estaban parcialmente metiladas (figura A). En ninguna de las muestras se observó metilación completa. La metilación incompleta observada puede ser debida a la heterogeneidad del tumor, a la infiltración de linfocitos de sangre periférica y/o a la vasculatura. A fines de comparación, puede determinarse si la metilación parcial del promotor MGMT del tumor puede ser responsable de esta observación mediante la investigación del estado de metilación del promotor MGMT de 6 líneas celulares de GBM, incluida la línea celular 145 establecida a partir de un paciente tratado con temozolomida y cuyo tumor congelado en nitrógeno líquido también se analiza en el estudio anterior. En cuatro de las seis líneas celulares estudiadas, se observa metilación parcial del promotor (figura B). Los resultados muestran que, incluso en líneas celulares de GBM puras, puede existir metilación parcial del promotor de MGMT.

Figura A

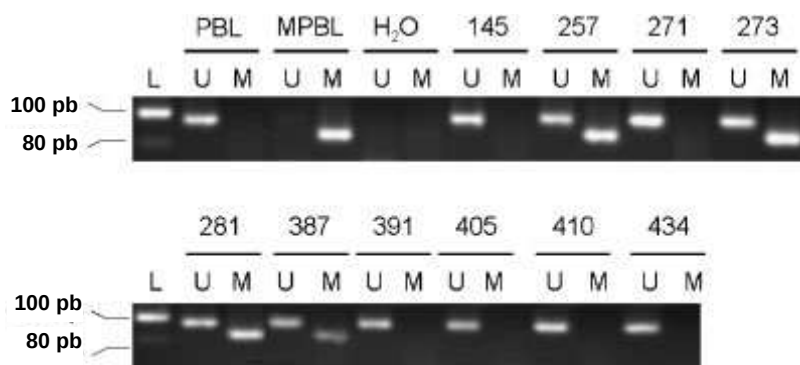


Figura A. Estado de metilación del promotor de MGMT en muestras de biopsias de GBM según se determina mediante un ensayo de PCR anidada específica de metilación. Para la PCR se usó ADN de linfocitos de sangre

periférica (PBL) normales como control del promotor de MGMT no metilado (U), ADN de PBL enzimáticamente metilados (MPBL) sirvió como control positivo para el promotor de MGMT metilado (M) y se usó agua como control negativo. Se carga un fragmento marcador de 100 pb para estimar el tamaño molecular, como se muestra en la escala de la izquierda (L).

5 Figura B

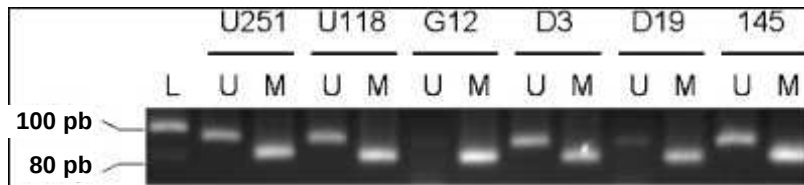


Figura B. Estado de metilación del promotor de MGMT en líneas celulares de GBM según se determina mediante ensayos de PCR anidada específica de metilación. Se carga un fragmento marcador de 100 pb para estimar el tamaño molecular, como se muestra en la escala de la izquierda (L).

La técnica de análisis de MGMT descrita anteriormente se ha empleado en la mayoría de los estudios recientes mostrando que la metilación de MGMT es un factor de pronóstico útil de la respuesta a agentes alquilantes [1-3]. Esta técnica ha sustituido a técnicas anteriores de determinación de la actividad enzimática después de demostrarse que la metilación de MGMT era la causa principal de la pérdida de actividad enzimática de MGMT en GBM.

Los pacientes en los que se comprueba la metilación de MGMT o aquellos en los que se puede comprobar la metilación de MGMT, usando preferiblemente el método descrito anteriormente, un método análogo a este o cualquier otro método que sea igualmente adecuado según el conocimiento de los expertos en la técnica, se consideran «pacientes metilados» según la invención, más preferiblemente, como pacientes que presentan un aumento del estado de metilación de ADN y/o como pacientes que muestran una metilación parcial o completa de al menos un promotor de al menos un gen MGMT. De este modo, pertenecen al colectivo de pacientes que pueden tratarse de forma especialmente ventajosa con los métodos de tratamiento o los medicamentos según la invención.

Sin embargo, estas técnicas, p. ej., el método descrito a continuación, puede usarse preferiblemente según la presente invención con respecto al estado de MGMT.

La eficacia quimioterapéutica, o capacidad de la quimioterapia para erradicar células tumorales sin causar una toxicidad letal en el hospedador, depende de la selectividad del fármaco. Una clase de fármacos antineoplásicos, los agentes alquilantes, causan la muerte celular uniéndose al ADN, lo que distorsiona la estructura de la hélice de ADN impidiendo su transcripción y traducción. En células normales, la acción perjudicial de los agentes alquilantes puede ser reparada por las enzimas de reparación de ADN celular, en especial O⁶-metilguanina-ADN-metiltransferasa (MGMT) también conocida como O⁶-alquilguanina-ADN-alkiltransferasa (AGAT). El nivel de MGMT varía en las células tumorales, incluso entre los tumores del mismo tipo. El gen que codifica MGMT normalmente no está mutado ni presenta delecciones. Antes bien, los niveles bajos de MGMT en células tumorales se deben a una modificación epigenética; la región del promotor de MGMT está metilada, inhibiendo de este modo la transcripción del gen de MGMT y evitando la expresión de MGMT.

Se ha demostrado mediante diversas líneas de evidencia que la metilación está implicada en la expresión génica, la diferenciación celular, la oncogénesis, la inactivación del cromosoma X, la impronta genómica y otros procesos biológicos importantes. En las células eucariotas, la metilación de los restos de citosina que están situados inmediatamente antes de una guanosina, tiene lugar predominantemente en regiones pobres en citosina-guanina (CG). Por el contrario, las islas CpG permanecen sin metilar en células normales, excepto durante la inactivación del cromosoma X y la impronta parental específica donde la metilación de las regiones reguladoras 5' puede provocar la represión de la transcripción. La expresión de un gen supresor de tumores también puede eliminarse mediante la metilación *de novo* del ADN de un CpG normalmente no metilado.

La hipermetilación de genes que codifican enzimas de reparación de ADN puede servir como marcador para pronosticar la respuesta clínica a determinados tratamientos antineoplásicos.

Determinados agentes quimioterapéuticos (como, por ejemplo, agentes alquilantes) inhiben la proliferación celular por entrecruzamiento del ADN, lo que tiene como resultado la muerte celular.

Los intentos de tratamiento con estos agentes pueden verse frustrados y puede desarrollarse resistencia a estos agentes debido a que las enzimas de reparación de ADN eliminan las estructuras entrecruzadas. A la vista de los efectos secundarios perjudiciales de la mayoría de los agentes quimioterapéuticos y de la ineficacia de determinados fármacos para diversos tratamientos, es deseable predecir la respuesta clínica al tratamiento con agentes quimioterapéuticos.

En la patente de EE. UU. N.º 6.773.897 se describen métodos relacionados con el tratamiento quimioterapéutico de un trastorno proliferativo celular. En particular, se proporciona un método para «predecir la respuesta clínica a determinados tipos de agentes quimioterapéuticos», incluidos agentes alquilantes específicos. El método conlleva la determinación y comparación del estado de metilación del ácido nucleico que codifica una enzima de reparación de ADN de un paciente que necesita tratamiento con el de un sujeto que no necesita tratamiento. Cualquier diferencia puede considerarse «pronóstico» de respuesta. Sin embargo, el método no sugiere cómo mejorar los resultados clínicos para cualquier paciente con un «pronóstico» desfavorable.

Temozolomida es un agente alquilante comercializado por Schering Corp. con los nombres comerciales de Temodar® en Estados Unidos y Temodal® en Europa.

Las cápsulas de Temodar® para administración oral contienen temozolomida, un derivado de imidazotetrazina. El nombre químico de temozolomida es 3,4-dihidro-3-metil-4-oxoimidazo[5,1-d]-as-tetrazina-8-carboxamida (véase patente de EE. UU. N.º 5.260.291). Se considera que la citotoxicidad de temozolomida o su metabolito MTIC, se debe principalmente a la alquilación del ADN. La alquilación (metilación) se produce principalmente en las posiciones O⁶ y N⁷ de la guanina.

Las cápsulas de Temodar® (temozolomida) están actualmente indicadas en Estados Unidos para el tratamiento de pacientes adultos con glioblastoma multiforme recién diagnosticado, así como para astrocitoma anaplásico resistente al tratamiento, es decir, pacientes en la primera redivida que han experimentado progresión de la enfermedad con un régimen terapéutico que contiene una nitrosourea y procarbazona. Temodal® está aprobado actualmente en Europa para el tratamiento de pacientes con glioma maligno, como glioblastoma multiforme o astrocitoma anaplásico que muestran recurrencia o progresión tras el tratamiento de referencia.

Según la invención, alternativamente al método descrito anteriormente, el nivel de metilación del gen de MGMT se evalúa mediante la determinación del nivel de proteína MGMT en una muestra obtenida del paciente. El nivel puede clasificarse como «muy bajo», «bajo», «moderado» y «alto», preferiblemente como se describe en más detalle a continuación.

La evaluación de si el gen de MGMT está metilado o no puede realizarse usando cualquier método conocido por los expertos en la técnica. Entre las técnicas útiles para detectar la metilación de un gen o ácido nucleico se incluyen, pero sin limitaciones, las descritas en Ahrendt y col., J. Natl. Cancer Inst., 91:332-339 (1999); Belsinky y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 95:11891-11896 (1998); Clark y col., Nucleic Acids Res., 22:2990-2997 (1994); Herman y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 93:9821-9826 (1996); Xiong y Laird, Nucleic Acids Res., 25:2532-2534 (1997); Eads y col., Nuc. Acids. Res., 28:e32 (2002); Cottrell y col., Nucleic Acids Res., 32:1-8 (2004). Todas las referencias citadas se incorporan en este documento por referencia.

Con la PCR específica de metilación (MSP, Herman y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93(18):9821-9826 (1996); Esteller y col., Cancer Res., 59:793-797 (1999)) véase también la patente de EE. UU. N.º 5.786.146, presentada el 28 de julio de 1998; patente de EE. UU. N.º 6.017.704, presentada el 25 de enero de 2000; patente de EE. UU. N.º 6.200.756, presentada el 13 de marzo de 2001 y la patente de EE. UU. N.º 6.265.171, presentada el 24 de julio de 2001; patente de EE. UU. N.º 6.773.897 presentada el 10 de agosto de 2004; cuyos contenidos completos se incorporan a este documento por referencia, se puede evaluar rápidamente el estado de metilación de prácticamente cualquier grupo de los sitios CpG dentro de una isla de CpG, independiente del uso de enzimas de restricción sensibles a la metilación. Este ensayo conlleva la modificación inicial del ADN mediante bisulfito sódico, convirtiendo todas las citosinas no metiladas, pero no las metiladas, en uracilo y la posterior amplificación con cebadores específicos para el ADN metilado frente al no metilado. La MSP requiere solo pequeñas cantidades de ADN, es sensible al 0,1% de los alelos metilados del locus de una isla de CpG determinada y puede realizarse con ADN extraído a partir de muestras incluidas en parafina. La MSP elimina los resultados falsos positivos inherentes a los procedimientos previos basados en PCR que dependen de la escisión diferencial mediante enzimas de restricción para distinguir entre ADN metilado y no metilado. Este método es muy sencillo y puede usarse en cantidades muy pequeñas de tejido o en unas pocas células.

Un ejemplo ilustrativo de un ensayo de inmunotransferencia útil para esta realización de la invención para medir el nivel de proteína MGMT en muestras de pacientes se presenta en la patente de EE. UU. N.º 5.817.514 de Li y col., cuya descripción completa se incorpora en este documento por referencia. Li y col., describen anticuerpos monoclonales capaces de unirse específicamente a una proteína MGMT nativa humana o a una proteína MGMT humana que tiene un sitio activo que está alquilado. Un ejemplo ilustrativo de una técnica de inmunohistoquímica

útil para esta realización de la invención para medir el nivel de proteína MGMT en muestras de pacientes se presenta en la patente de EE.UU. N° 5.407.804, cuya descripción completa se incorpora en este documento por referencia. Se describen anticuerpos monoclonales que son capaces de unirse específicamente a la proteína MGMT en preparaciones de células únicas (ensayos de tinción inmunohistoquímica) y en extractos celulares (inmunoensayos).

Se describe el uso de la lectura de fluorescencia acoplada con la digitalización de la imagen de la célula y permite la medición cuantitativa de los niveles de MGMT en muestras de pacientes o de control, incluyendo, pero sin limitaciones, muestras de biopsia tumoral.

Entre las técnicas útiles para determinar la actividad enzimática de la proteína MGMT se incluyen, pero sin limitaciones, los métodos descritos por: Myrnes y col., *Carcinogenesis*, 5:1061-1064 (1984); Futscher y col., *Cancer Comm.*, 1: 65-73 (1989); Kreklaw y col., *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 297(2):524-530 (2001) y Nagel y col., *Anal. Biochem.*, 321(1):38-43 (2003), cuyas descripciones completas se incorporan en este documento en su totalidad.

Según un modo de esta invención, el nivel de proteína MGMT expresado por células del paciente se evalúa midiendo la proteína MGMT, es decir, mediante inmunotransferencia usando un anticuerpo específico frente a MGMT, véase por ejemplo, la patente de EE. UU. N.º 5.817.514 (*supra*) de Li y col., en la cual se describe el ensayo de inmunotransferencia para determinar el nivel de MGMT. Este nivel se compara con el expresado por linfocitos normales que se sabe expresan MGMT.

Los niveles de proteína MGMT del paciente se clasifican preferiblemente como sigue: muy bajo = 0-30% de la MGMT expresada por linfocitos normales; bajo = 31-70% de la MGMT expresada por linfocitos normales, moderado = 71-90% y alto = 91-300% o superior a la MGMT expresada por linfocitos normales.

Los pacientes en los que se demuestren niveles de proteína MGMT moderados o inferiores o los pacientes en los que se puedan demostrar niveles de proteína MGMT moderados o inferiores, usando preferiblemente el método descrito anteriormente, un método análogo al anterior o cualquier otro método que sea igualmente adecuado según el conocimiento del experto en la técnica, se considerarán como «pacientes metilados» según la invención. De este modo, pertenecen al colectivo de pacientes que pueden tratarse de forma especialmente ventajosa con los métodos de tratamiento o los medicamentos según la invención.

Por consiguiente, los pacientes en los que se ha demostrado o puede demostrarse que presentan una expresión moderada (=71-90%), preferiblemente baja (=31-70%) y, más preferiblemente, muy baja (= 0-30%), de MGMT expresada en linfocitos normales se consideran, preferiblemente, como «pacientes metilados» según la invención, más preferiblemente, como pacientes que presentan un aumento del estado de metilación del ADN y/o como pacientes que muestran metilación parcial o completa de al menos un promotor de al menos un gen MGMT. De este modo, pertenecen al colectivo de pacientes que pueden tratarse de forma especialmente ventajosa con los métodos de tratamiento o los medicamentos según la invención.

Por tanto, un objeto especialmente preferido de la invención es un uso, como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de pacientes que presentan un aumento en el estado de la metilación de ADN.

Por tanto, un objeto especialmente preferido de la invención es un uso como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de pacientes que muestran una metilación parcial o completa de al menos un promotor de al menos un gen de MGMT.

Por tanto, un objeto especialmente preferido de la invención es un uso como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa para el tratamiento de pacientes que presentan un nivel moderado, preferiblemente bajo y, más preferible, muy bajo de proteína MGMT, preferiblemente en comparación con el MGMT expresado por linfocitos normales.

Por tanto, un objeto especialmente preferido de la invención es un uso como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa para el tratamiento de pacientes que presentan un aumento del estado de metilación del ADN y en el que dicho método comprende la administración de uno o más agentes alquilantes, preferiblemente seleccionados entre mostazas nitrogenadas, compuestos etilenimina, sulfonatos de alquilo y otros compuestos con acción alquilante, preferiblemente seleccionados entre nitrosoureas, preferiblemente ACNU, BCNU y CCNU, busulfán, melfalán, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, ciclofosfamida, dacarbazina, carmustina, ifosfamida y lomustina, temozolomida y altretamina, o camptotecina.

Por tanto, un objeto especialmente preferido de la invención es un uso como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de pacientes que presentan un estado de metilación parcial o completo de al menos un promotor de al menos un gen MGMT y en el que dicho método comprende la

administración de uno o más agentes alquilantes, preferiblemente seleccionado entre mostazas nitrogenadas, compuestos de etilenimina, sulfonatos de alquilo y otros compuestos con acción alquilante, preferiblemente seleccionados entre nitrosoureas, preferiblemente ACNU, BCNU y CCNU, busulfán, melfalán, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, ciclofosfamida, dacarbazina, carmustina, ifosfamida y lomustina, temozolomida y altretamina, o camptotecina.

Por tanto, un objeto especialmente preferido de la invención es un uso como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa para el tratamiento de pacientes que presentan un nivel moderado, preferiblemente bajo y, más preferiblemente muy bajo de proteína MGMT, preferiblemente en comparación con la MGMT expresada por linfocitos normales y en el que dicho método comprende la administración de uno o más agentes alquilantes, preferiblemente seleccionados entre mostazas nitrogenadas, compuestos de etilenimina, sulfonatos de alquilo y otros compuestos con acción alquilante, preferiblemente seleccionados entre nitrosoureas, preferiblemente ACNU, BCNU y CCNU, busulfán, melfalán, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, ciclofosfamida, dacarbazina, carmustina, ifosfamida y lomustina, temozolomida y altretamina, o camptotecina.

Los métodos para evaluar un aumento del estado de metilación del ADN y/o que muestran metilación parcial o completa de al menos un promotor de al menos un gen MGMT en pacientes son conocidos en la técnica. Por consiguiente, los pacientes que pueden tratarse de forma ventajosa mediante los usos descritos en este documento pueden ser fácilmente determinados por los expertos en la técnica.

Un objeto preferido de la presente invención es un uso como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de astrocitoma recurrente, por ejemplo, en el ámbito de un tratamiento de segunda línea o posterior.

Un objeto más preferido de la presente invención es un uso como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de cáncer recurrente, por ejemplo, en el ámbito de un tratamiento de segunda línea o posterior, en el que el cáncer se selecciona entre el grupo compuesto por astrocitoma, más preferiblemente astrocitoma de grado II, III y/o IV, y especialmente compuesto por glioblastoma o glioblastoma multiforme.

Un objeto incluso más preferido de la presente invención es un uso como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de astrocitoma recién diagnosticado, preferiblemente en el ámbito del tratamiento de primera línea.

Un objeto especialmente preferido de la presente invención es un uso como se describe en este documento, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de cáncer recién diagnosticado, preferiblemente en el ámbito de un tratamiento de primera línea, en el que el cáncer se selecciona entre el grupo compuesto por astrocitoma, más preferiblemente astrocitoma de grado II, III y/o IV, y especialmente compuesto por glioblastoma o glioblastoma multiforme.

Ejemplos

Los ejemplos siguientes se proporcionan para ayudar al experto a comprender mejor la presente invención mediante ejemplos. Los ejemplos no pretenden limitar el alcance de protección que confieren las reivindicaciones. Las características, propiedades y ventajas ilustradas para los compuestos y usos definidos en los ejemplos pueden asignarse a otros compuestos y usos no específicamente descritos y/o definidos en los ejemplos, pero que están incluidos en el alcance de lo que se define en las reivindicaciones.

Ejemplo 1 [Solo para información técnica]: Experimentos de administración de radioterapia y Cilengitide (= ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal)) en un modelo de glioblastoma ortotópico en rata

Ratas *NIH rnu* desnudas se anestesiaron, se inmovilizaron y se les inyectó intracerebralmente 1 mm retroorbitalmente, 3 mm a la derecha del bregma y a una profundidad de 2,5 mm con 5×10^5 células de glioblastoma humano U251 suspendidas en 10 μ l de medio de cultivo, usando una jeringa de Hamilton N.º 2701 conectada a una aguja de calibre 26, esencialmente como se ha descrito previamente (Engelbraaten y col., 1999). Después de 14 días, se administra Cilengitide (4 mg/kg) como bolo intraperitoneal en PBS, a diversos tiempos (8, 4, 2 y 1 h) antes de un tratamiento único con haz dorso-ventral colimado y único de rayos X de 6 MV, de modo que el 95-100% de la dosis del eje central de 25 Gy incida sobre el volumen del tumor (Kim y col., 1999). Cada uno de los 7 días posteriores, los animales también recibieron un bolo i.p. de Cilengitide idéntico. Los animales se mantuvieron con libre acceso a agua y comida hasta que estuvieron moribundos o se obtuvieron muestras para el análisis de los tejidos (en los grupos t-4 y t-8 h, en los que los animales estaban sanos 230 días después de la inyección del tumor). Se calculó y representó la curva de supervivencia de Kaplan-Meier (figura 1) a partir de los datos sin procesar (tabla 1). Todos los animales del grupo de monoterapia RT murieron antes de los 120 días.

Lista de referencias:

Engelbrechts, O., Hjortland, G.O., Hirschberg, H. y Fodstad, O. (1999). Growth of precultured human glioma specimens in nude rat brain. J. Neurosurg. 90, 125-132.

5 Kim, J.H., Khil, M.S., Kolozsvary, A., Gutierrez, J.A. y Brown, S.L. (1999). Fractionated radiosurgery for 9L gliosarcoma in the rat brain. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 45, 1035-1040.

Los resultados se proporcionan a continuación en la tabla 1 y en la figura 1:

Tabla 1

400.000 células U251n iny.				Estudio de supervivencia de EMD			
Grupo	Tiempo preirradiación	N.º animal	Trat.	Fecha de inyección	Fecha de radiación	Fecha de terminación	Días post implante
89	8 horas	G89-1	Rt	03.03.2005	17.03.2005	(Enfer.) 7/6/2005	96
89	8 horas	G89-2	Rt	03.03.2005	17.03.2005	(Enfer.) 17/6/2005	106
89	8 horas	G89-3	Rt + EMD	03.03.2005	17.03.2005	(Sano) 15/11/2005	257
89	8 horas	G89-4	Rt + EMD	03.03.2005	17.03.2005	(Sano) 15/11/2005	257
89	8 horas	G89-5	Rt + EMD	03.03.2005	17.03.2005	(Vivo) 15/12/2005	287
89	8 horas	G89-6	Rt + EMD	03.03.2005	17.03.2005	(Vivo) 15/12/2005	287
90	4 horas	G90-1	Rt	05.04.2005	19.04.2005	(Enfer.) 20/7/2005	106
90	4 horas	G90-2	Rt	05.04.2005	19.04.2005	(Enfer.) 29/7/2005	115
90	4 horas	G90-3	Rt + EMD	05.04.2005	19.04.2005	(Sano) 29/11/2005	238
90	4 horas	G90-4	Rt + EMD	05.04.2005	19.04.2005	(Sano) 29/11/2005	238
90	4 horas	G90-5	Rt + EMD	05.04.2005	19.04.2005	(Vivo) 15/12/2005	254
90	4 horas	G90-6	Rt + EMD	05.04.2005	19.04.2005	(Vivo) 15/12/2005	254
91	2 horas	G91-1	Rt	12.04.2005	26.04.2005	(Enfer.) 26/7/2005	105
91	2 horas	G91-2	Rt	12.04.2005	26.04.2005	(Enfer.) 12/8/2005	122
91	2 horas	G91-3	Rt + EMD	12.04.2005	26.04.2005	(Enfer.) 10/8/2005	120
91	2 horas	G91-4	Rt + EMD	12.04.2005	26.04.2005	(Enfer.) 6/9/2005	147

(continuación)

400.000 células U251n iny.				Estudio de supervivencia de EMD			
Grupo	Tiempo preirradiación	N.º animal	Trat.	Fecha de inyección	Fecha de radiación	Fecha de terminación	Días post implante
91	2 horas	G91-5	Rt + EMD	12.04.2005	26.04.2005	(Enfer.) 21/9/2005	162
91	2 horas	G91-6	Rt + EMD	12.04.2005	26.04.2005	(Enfer.) 25/10/2005	196
92	1 hora	G92-1	Rt	12.05.2005	26.05.2005	(Enfer.) 26/8/2005	106
92	1 hora	G92-2	Rt	12.05.2005	26.05.2005	(Enfer.) 1/9/2005	112
92	1 hora	G92-3	Rt + EMD	12.05.2005	26.05.2005	(Enfer.) 1/09/2005	112
92	1 hora	G92-4	Rt + EMD	12.05.2005	26.05.2005	(Enfer.) 2/9/2005	113
92	1 hora	G92-5	Rt + EMD	12.05.2005	26.05.2005	(Enfer.) 19/9/2005	130
92	1 hora	G92-6	Rt + EMD	12.05.2005	26.05.2005	(Enfer.) 30/9/2005	141

Enfer. = moribundo y retirado del estudio

- 5 Sano = indica que se tomó una muestra de tejido en la fecha mostrada, pero seguía vivo en ese punto temporal.

Vivo = sobrevive en el punto temporal mostrado.

Tiempo preirradiación = cuando se administra Cilengitide a 4 mg/kg.

Rt = radioterapia 25 Gy

EMD = bolo de 4 mg/kg de Cilengitide

- 10 Convención de fecha americana en la columna de fecha de finalización y convención europea en la columna de fecha de radiación.

Ejemplo 2 [Solo para información técnica]: Ensayo clínico en fase IIa de terapia con el agente único Cilengitide (= ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal)) en pacientes con glioblastoma recurrente

- 15 Antecedentes: El presente estudio en fase IIa se diseñó para evaluar la seguridad, toxicidad y actividad clínica del pentapéptido RGD cíclico Cilengitide (= ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal)), un inhibidor de las integrinas $\alpha_v\beta_3$ y $\alpha_v\beta_5$, como agente único a dosis de 500 y 2000 mg en pacientes (pcs) con glioblastoma recurrente (GBM).

- 20 Métodos: En este estudio abierto, aleatorizado, no controlado y multicéntrico, pcs con GBM y enfermedad mensurable que habían redivido después de un tratamiento previo con temozolomida y radioterapia fueron asignados aleatoriamente para recibir Cilengitide a dosis de 500 mg o 2000 mg i.v., 2 veces/semana hasta la progresión. El diagnóstico histopatológico y el diagnóstico mediante RM se sometió a revisión ciega independiente. El criterio principal de valoración fue la supervivencia sin progresión (SSP) a 6 meses. Entre los criterios secundarios de valoración se incluían la respuesta, supervivencia, tiempo hasta la progresión de la enfermedad, seguridad, tolerabilidad y farmacocinética.

Resultados: Reclutamiento real; 81 pcs (mediana del estado funcional de Karnofsky 80%; mediana de edad 57 años) en 15 centros. 41 pcs recibieron 500 mg y 40 pcs recibieron 2000 mg de Cilengitide i.v. 2 veces/semana. No se observó un desequilibrio obvio en los factores de pronóstico. Mediana de infusiones: 16 [intervalo, 4-179]. Entre los acontecimientos adversos (AA) relacionados con el tratamiento de grado 3 según los criterios NCI CTC se observaron niveles de enzimas hepáticas elevados (con 500 mg), artralgia/mialgia (con 500 mg) y aumento de peso/edema (con 2000 mg) en 1 paciente, respectivamente. Los investigadores no notificaron AA relacionados con el tratamiento de grado 4. Se notificó una hemorragia cerebral de grado 2 según los criterios CTC, posiblemente relacionada con el fármaco o con la enfermedad. La tasa de SSP a 6 meses fue del 16,1% (n = 13/81 pcs). 10 de estos pcs (12,3%, n = 4 con 500 mg, n = 6 con 2000 mg) recibieron 12 o más ciclos de tratamiento (1 ciclo = 4 semanas). Seis pcs (7,4%) seguían sin progresión y en tratamiento en el momento de la presentación de este resumen. En el grupo de 500 mg, la mediana de la supervivencia general (mSG) era de 6,5 meses [IC del 95%: 5,2-9,3 meses], la tasa de supervivencia global (SG) a 12 meses era del 24,4%. En el grupo de 2000 mg, la mSG era de 9,9 meses [IC del 95%, 6,3-15,7 meses], la tasa de SG a 12 meses era del 37,5%. Aunque no era estadísticamente significativa, se observó una tendencia hacia un mejor control del tumor en los pcs que recibieron 2000 mg 2 veces/semana.

Conclusión: Cilengitide se toleró bien en terapia con agente único a dos niveles de dosis. Cilengitide mostró una actividad ventajosa en terapia con agente único en glioblastoma recurrente con la estabilización a largo plazo de la enfermedad en un subgrupo de pcs.

Ejemplo 3: Ensayo clínico en fase I/IIa de Cilengitide (= ciclo-(Arg-Gly-DPhe-NMeVal)) y temozolomida con radioterapia concomitante, seguido de terapia de mantenimiento con temozolomida y Cilengitide en pacientes con glioblastoma recién diagnosticado (GBM).

Objetivo: Evaluar la seguridad, toxicidad y eficacia de la combinación del pentapéptido RGD cíclico Cilengitide (=ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), un inhibidor de las integrinas $\alpha_v\beta_3$ y $\alpha_v\beta_5$, además de temozolomida (TMZ) y radioterapia (RT) convencionales.

Pacientes y métodos: Se trató a 52 pcs (EF 0-1: 92%, 2: 8%, mediana de edad de 57 años) tras la biopsia (n=9/17%) o resección de tumor (n=43/83%) con TMZ/RT convencional (Stupp y col., NEJM 2005). Además, el tratamiento con Cilengitide (500 mg i.v., 2 veces/semana) se inició una semana después de TMZ/RT y se administró durante toda la quimioterapia y hasta progresión. El criterio principal de valoración era la tasa de supervivencia sin progresión a 6 meses (objetivo: 65%). Se realizó un seguimiento de los pacientes con RM cada 2 meses. El diagnóstico histopatológico y el estudio por RM se revisaron independientemente y se evaluó el estado de metilación del promotor de MGMT en 45 (86,5%) pcs.

Resultados: Completaron la RT 46 pcs (92%), 42 pc recibieron $\geq 90\%$ de TMZ concomitante y 45 pcs recibieron Cilengitide. 20 pcs (3 en curso) completaron 6 ciclos de TMZ y Cilengitide de mantenimiento. La toxicidad hematológica de grados 3 y 4 observada fue: linfopenia (28/52; 53,8%), trombocitopenia (7/52 pcs, 13,4%) y neutropenia (5/52; 9,6%). Se notificaron toxicidades no hematológicas relacionadas con el tratamiento de grado 3 en 3/52 (5,7%) pacientes: síntomas constitutivos (astenia, fatiga, anorexia, n=3); pruebas de función hepática elevada (n=1), trombosis venosa profunda y embolia pulmonar (n=1). Un paciente con antecedentes de diverticulosis sigmoidea experimentó perforación sigmoidea (grado 2). En total, 34/52 (65,4% [IC del 95%, 50,9-78,0%]) de los pacientes no presentaron progresión a 6 meses. Pcs con metilación del promotor de la O⁶-metilguanina-ADN metiltransferasa (MGMT) en el tumor tenían más probabilidad de alcanzar el criterio principal de valoración de la SSP a 6 meses. En total, 34/52 (65,4% [IC del 95%, 50,9-78,0%]) de los pacientes no presentaron progresión a 6 meses. Un subgrupo de pacientes proporcionó una contribución importante al resultado general (23/52 pacientes con promotor de MGMT metilado, con silenciamiento de la enzima MGMT de reparación de ADN), los cuales mostraron un fuerte aumento de la tasa de SSP-6 meses en comparación con el control histórico (91% frente al 69%). El otro subgrupo principal (22/52, promotor de MGMT no metilado) mostró una diferencia menos significativa con respecto al control histórico (40,9% frente a 40%), que es probable que mejore significativamente con una dosis mayor de Cilengitide en comparación con el subgrupo con el promotor de MGMT metilado. En general, el estudio alcanzó el criterio principal de valoración (SSP-6 = 65,4%).

Conclusión: El estudio alcanzó el criterio principal de valoración. La combinación del péptido RGD inhibidor de integrinas Cilengitide y TMZ/RT fue bien tolerada, la SSP a 6 meses es muy ventajosa. La metilación del promotor del gen de MGMT proporciona incluso un mejor pronóstico.

REIVINDICACIONES

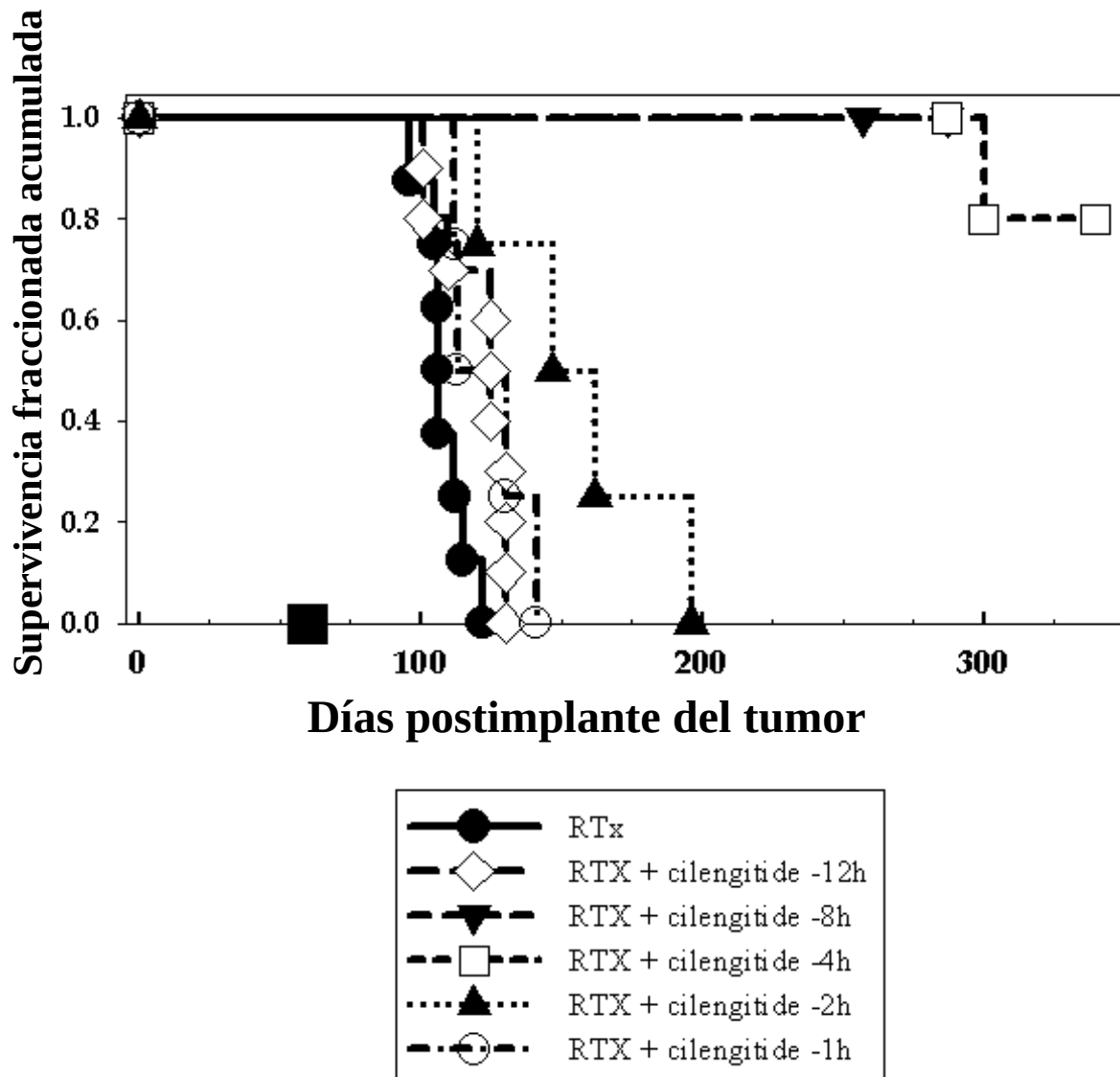
1. Uso de al menos un ligando específico de integrinas, seleccionado entre ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y los solvatos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con temozolomida y radioterapia.
2. Uso según la reivindicación 1, en el que el astrocitoma es glioblastoma o glioblastoma multiforme.
3. Uso según las reivindicaciones 1 y/o 2, en el que la radioterapia es radiación de haz externo fraccionada.
4. Uso según una o más de las reivindicaciones de la 1 a la 3, en el que dicho ligando específico de integrinas se aplica sustancialmente de forma concurrente o secuencial a la temozolomida y/o la radioterapia.
5. Uso según una o más de las reivindicaciones de la 1 a la 4, en el que al menos un ligando de integrinas es ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal).
6. Uso según una o más de las reivindicaciones de la 1 a la 5, en el que al menos uno de los ligandos específicos de integrinas se administra de 1 a 8 horas (h) antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.
7. Uso según se reivindica en una o más de las reivindicaciones de la 1 a la 6, en el que al menos uno de los ligandos específicos de integrinas se administra de 2 a 6 horas antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.
8. Uso según la reivindicación 1, en el que al menos un ligando específico de integrinas que comprende el ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo se usa para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con radioterapia, en el que al menos el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo se administran de 1 a 10 horas antes de la aplicación de la radioterapia y en el que se aplica al menos un agente antineoplásico coterapéutico que comprende temozolomida.
9. Uso según la reivindicación 1, en el que al menos un ligando específico de integrinas, que comprende ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), se usa para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de glioblastoma multiforme, en el que el medicamento se usa en combinación con temozolomida y radioterapia.
10. Uso según las reivindicaciones 8 y/o 9, en el que la radioterapia es radiación de haz externo.
11. Uso según una o más de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 9 y 10, en el que al menos el ligando específico de integrinas se aplica de 1 a 32 horas antes de la aplicación de uno o más agentes antineoplásicos coterapéuticos adicionales y/o radioterapia.
12. Uso según la reivindicación 1, en el que al menos un ligando específico de integrinas que comprende el ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo se usan para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de astrocitoma, en el que el medicamento se usa en combinación con temozolomida y radioterapia, y en el que al menos el ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) y los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo se administran a un paciente en una cantidad de 800 a 7000 mg a la semana.
13. Uso según una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra a un paciente en una cantidad de aproximadamente 1000 mg a la semana, aproximadamente 1500 mg a la semana, aproximadamente 2500 mg a la semana, aproximadamente 4000 mg a la semana o aproximadamente 6000 mg a la semana.
14. Uso según una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que la cantidad de aproximadamente 1000 mg por semana o aproximadamente 4000 mg por semana se administra en un programa de administración dos veces a la semana y la cantidad de aproximadamente 1500 mg por semana o aproximadamente 6000 mg por semana se administra en un programa de administración de tres veces por semana.
15. Uso según una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que la cantidad de aproximadamente 1000 mg por semana se administra en un programa de administración de dos veces por semana consistente en aproximadamente 500 mg por administración o la cantidad de aproximadamente 4000 mg por semana se

administra en un programa de administración de dos veces por semana de aproximadamente 2000 mg por administración.

- 5 **16.** Uso según una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que al menos un ligando específico de integrinas ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal), los solvatos y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se administra de 2 a 8 horas o de 3 a 8 horas antes de la aplicación de la radioterapia.
- 10 **17.** Uso según una o más de las reivindicaciones 8 y de la 10 a la 16, en el que adicionalmente se aplica un agente antineoplásico coterapéutico adicional, seleccionado entre cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, 5-FU, dacarbazina, procarbazona, vinblastina, vincristina, irinotecán, taxol, paclitaxel, docetaxel, gemcitabina, gleevec, iressa, tarceva y nexavar, Herceptin, bevacizumab, cetuximab, nimotuzumab, sorafenib, sunitinib y ZD6474 (ZACTIMA™), o seleccionado entre cisplatino, oxaliplatino, vinblastina, taxol, gemcitabina, gleevec e iressa.
- 15 **18.** Uso según una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de paciente que presentan un aumento del estado de metilación del ADN.
- 19.** Uso según una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de pacientes que muestran una metilación parcial o completa de al menos un promotor de al menos un gen de MGMT.
- 20 **20.** Uso según una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que el medicamento se usa en el tratamiento de cáncer recién diagnosticado, preferiblemente en el ámbito de un tratamiento de primera línea.
- 21.** Ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) para uso en el tratamiento de astrocitoma en combinación con temozolomida y radioterapia.
- 22.** Ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) para uso según la reivindicación 21, en el que el astrocitoma es glioblastoma o glioblastoma multiforme.
- 23.** Ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) para uso según las reivindicaciones 21 y/o 22, en el que la radioterapia es radiación de haz externo fraccionada.
- 25 **24.** Ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) para uso según las reivindicaciones 21, 22 y/o 23, en el que dicho ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se aplica sustancialmente de forma concurrente o secuencial a la temozolomida y/o la radioterapia.
- 30 **25.** Ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) para uso según las reivindicaciones 21, 22, 23 y/o 24, en el que dicho ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra de 1 a 8 horas (h) antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.
- 26.** Ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) para uso según las reivindicaciones 21, 22, 23, 24 y/o 25, en el que dicho ciclo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal) se administra de 2 a 6 horas antes de la aplicación de la radioterapia y/o la temozolomida.

Figura 1

Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de ratas desnudas portadoras de células U251 derivadas de glioblastoma ortotópico humano.



El cuadrado negro representa la supervivencia de los animales no irradiados.

Figura 2

