

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 293**

51 Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/4704 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.01.2013 PCT/EP2013/050973**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **25.07.2013 WO13107883**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.01.2013 E 13701040 (1)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.06.2018 EP 2804609**

54 Título: **Tetrahidrofolatos en combinación con inhibidores de EGFR**

30 Prioridad:

20.01.2012 EP 12151993

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

24.10.2018

73 Titular/es:

**ISOFOL MEDICAL AB (100.0%)
Biotech Center, Arvid Wallgrens Backe 20
413 46 Göteborg, SE**

72 Inventor/es:

**GUSTAVSSON, BENGT y
CARLSSON, BJÖRN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 687 293 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

Tetrahidrofolatos en combinación con inhibidores de EGFR

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a cetuximab y a metilen-tetrahidrofolato para su uso en el tratamiento del cáncer.

Antecedentes de la invención

10 El cáncer es uno de los mayores problemas sanitarios del mundo. Es una de las principales causas de muerte en todo el mundo y, junto con las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y las enfermedades respiratorias crónicas, provoca más del 60 % de todas las muertes a nivel mundial. Se produjeron aproximadamente 12,7 millones de casos nuevos de cáncer y 7,6 millones de muertes por cáncer en 2008 en todo el mundo.

15 El cáncer colorrectal (CCR) es el tercer cáncer más común en hombres y el segundo en mujeres en todo el mundo. Casi el 60 % de los casos se producen en regiones desarrolladas. Las tasas de incidencia varían en todo el mundo, pero en general son sustancialmente más altas en los hombres que en las mujeres. Más de 600.000 personas mueren cada año a causa de la enfermedad, lo que representa el 8 % de todas las muertes relacionadas con el cáncer. Solo en los Estados Unidos, se diagnostican más de 150.000 casos nuevos cada año. El cáncer de colon se define como el cáncer que se forma en los tejidos del colon (la parte más larga del intestino grueso). La mayoría de los cánceres de colon son adenocarcinomas (cánceres que comienzan en las células que producen y liberan moco y otros fluidos).

25 El cáncer de colon es una enfermedad altamente tratable y, con frecuencia, curable cuando se localiza en el intestino. La cirugía es la forma principal de tratamiento y da como resultado la curación en aproximadamente el 50 % de los pacientes. La reaparición después de la cirugía es un problema importante y, con frecuencia, es la principal causa de muerte. Casi la mitad de los casos de cáncer colorrectal son metastásicos o se convierten en una enfermedad metastásica. En estos casos, la quimioterapia es la única opción de tratamiento y el pronóstico para el paciente con frecuencia es bastante malo. De forma similar, las pautas de tratamiento para otras formas de cáncer no conducen a la recuperación completa de todos los pacientes y muchos cánceres reaparecen y/o se convierten en formas metastásicas.

35 Por tanto, existe una gran necesidad de terapias a base de fármacos nuevas y mejoradas para combatir no solo el cáncer colorrectal, sino también otras indicaciones de cáncer tales como, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer gastrointestinal, cáncer de vesícula biliar, cáncer de vías biliares, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer mesotelioma, cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de cuello de útero, linfoma periférico de linfocitos T (LPLT), melanoma, tumores cerebrales, adenocarcinoma, cáncer de esófago y osteosarcoma.

45 El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, del inglés *epidermal growth factor receptor*) es una tirosina cinasa que, cuando se estimula, activa varias vías de señalización, incluyendo las vías MAPK, Akt y JNK. La activación de las proteínas implicadas en estas vías en última instancia conduce a la síntesis de ADN y la proliferación celular, y se ha demostrado que la vía del EGFR se activa en una amplia diversidad de cánceres, incluyendo el CCR. Por tanto, el EGFR es una diana atractiva para la terapia antineoplásica. Por tanto, se han desarrollado varios inhibidores del EGFR para su uso en el tratamiento del cáncer. Estos incluyen anticuerpos monoclonales tales como cetuximab y panitumumab, y el recientemente desarrollado zalutumumab, nimotuzumab y matuzumab, así como fármacos de moléculas pequeñas tales como gefitinib, erlotinib y lapatinib. En general, los anticuerpos monoclonales se unen al sitio de unión del ligando extracelular del EGFR, mientras que las moléculas pequeñas se unen e inhiben la parte tirosina cinasa intracelular del EGFR.

50 El cetuximab (Erbix®) y el panitumumab (Vectibix®) son anticuerpos monoclonales e inhibidores del EGFR. Ejercen su inhibición uniéndose al dominio extracelular del EGFR, evitando de este modo la unión del ligando natural y la activación del receptor. El cetuximab es un anticuerpo monoclonal quimérico de ratón/humano del isotipo IgG1, mientras que el panitumumab es un anticuerpo completamente humano del isotipo IgG2.

55 El cetuximab se usa actualmente para el tratamiento de segunda y tercera línea del cáncer colorrectal metastásico (CCRm), en los casos en que el tumor expresa EGFR y KRAS de tipo silvestre (oncogén vírico del sarcoma de ras Kirsten, por sus siglas en inglés). KRAS es una proteína de unión a trifosfato de guanosina (GTP) corriente abajo del EGFR y es un componente fundamental de la vía de proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK, del inglés *mitogen-activated protein kinase*), que es un componente de la cascada de señalización del EGFR. Las mutaciones de KRAS conducen a la activación constitutiva dependiente de EGFR de la vía de señalización y se asocia a una falta de respuesta y una falta de beneficio de los inhibidores de EGFR tales como cetuximab y panitumumab. Aproximadamente el 40 % de los cánceres colorrectales se caracterizan por una mutación en el gen KRAS.

Aproximadamente el 90 % de estas mutaciones se producen en los codones 12 y 13 en el exón 2 del gen KRAS, produciéndose las mutaciones restantes en los codones 61 y 146 (aproximadamente un 5 % en cada uno).

Se ha demostrado que el cetuximab es útil para superar la resistencia adquirida a la quimioterapia con irinotecán y, por tanto, se usa en combinación con irinotecán en pacientes con CCRm que son refractarios (resistentes) al irinotecán. También se usa como agente único en pacientes con CCRm después de las pautas a base de irinotecán y oxaliplatino que han fallado o en pacientes que son intolerantes a las pautas a base de irinotecán.

Además, el cetuximab se usa para el tratamiento de pacientes con diversas etapas de carcinoma de células escamosas de la cabeza y el cuello, ya sea en combinación con radioterapia o junto con o después de la terapia a base de platino.

El panitumumab se usa para el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico que expresa EGFR refractario en pacientes con KRAS no mutado, es decir, donde ha fallado otro tratamiento previo.

Aunque inicialmente los inhibidores de EGFR eran muy prometedores como agentes antineoplásicos y, de hecho, aún tienen usos valiosos, también se asocian a algunos inconvenientes. Cuando se usa en un escenario no tratado anteriormente (es decir, en pacientes sin tratamiento previo) como agente único, la eficacia del cetuximab ha sido escasa, sin producir ninguna mejora sustancial en la supervivencia de los pacientes. Además, cuando se usa en diferentes tratamientos de combinación con, por ejemplo, FOLFIRI (5-fluorouracilo (5-FU), leucovorina e irinotecán), FOLFOX (5-FU, leucovorina y oxaliplatino) o CAPOX (capecitabina y oxaliplatino), el cetuximab mejoró los tiempos de supervivencia cuando se combinó con FOLFIRI, pero produjo una mejora incierta en las tasas de respuesta o los tiempos de supervivencia para las otras combinaciones (para una revisión véase Garreth y Eng, *Expert Opin. Biol. Ther.* (2011), volumen 11, páginas 937-949).

Los beneficios del tratamiento con cetuximab son más evidentes en un escenario refractario a la quimioterapia, es decir, donde otros tratamientos han fallado, donde se ha demostrado que el cetuximab mejora las tasas de respuesta cuando se usa como agente único y en combinación con irinotecán (Cunningham et al, *N. Engl. J. Med.* (2004), volumen 351, páginas 337-345, Jonker et al., *N. Engl. J. Med.* (2007), volumen 357, páginas 2040-2048). Se demostró que la mejora en la supervivencia en este escenario es bastante modesta, es decir, de algunos meses.

El tratamiento con cetuximab se asocia a algunas reacciones secundarias graves y algunas adversas, incluyendo reacciones alérgicas graves a la infusión, paro cardiopulmonar, toxicidad dermatológica e hipomagnesemia (Garreth y Eng, *Expert Opin. Biol. Ther.* (2011), volumen 11, páginas 937-949; Lenz, *Biologics* (2007), volumen 1, páginas 77-91). La toxicidad observada con mayor frecuencia a causa del cetuximab es la erupción cutánea; la mayoría de los pacientes desarrolla una erupción en forma de acné, que puede tener un impacto psicológico significativo en el paciente. Otros efectos secundarios habituales incluyen prurito, cambios en las uñas, dolor de cabeza, diarrea, infecciones y vómitos. Se observan reacciones secundarias similares en relación con el tratamiento con panitumumab.

Por tanto, todavía existe la necesidad de encontrar nuevas pautas de tratamiento contra el cáncer, así como de mejorar la eficacia y reducir los efectos secundarios de los inhibidores de EGFR tales como cetuximab y panitumumab.

Los folatos son sustancias endógenas que son esenciales para la división celular y el crecimiento celular. Los folatos reducidos intracelulares existen como un conjunto de al menos seis formas interconvertibles. Los folatos están implicados, por ejemplo, en el metabolismo de los nucleótidos, donde sirven como sustratos y/o coenzimas de diversas enzimas, tales como la timidilato sintasa (TS) y la dihidrofolato reductasa (DHFR). El folato metileno-tetrahidrofolato (metileno-THF), por ejemplo, actúa como un donador de un carbono en la conversión entre dUMP y dUTP, realizada por la TS. De este modo, contribuye a la síntesis de timidina y, por tanto, a la síntesis de ADN y al crecimiento celular.

El papel de los folatos en la carcinogénesis es complejo. Los datos experimentales indican que el momento de la administración de complementos de folato durante la carcinogénesis es importante (Ulrich, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* (2006), volumen 15, páginas 189-93; Kim, *Gut* (2006), volumen 55, páginas 1387-1389). Aunque los aumentos en los niveles de folato antes de la existencia de lesiones preneoplásicas (tales como focos de criptas aberrantes o pólipos en el colon) pueden prevenir el desarrollo tumoral, se cree que la administración de complementos de folato potencia la progresión del cáncer una vez que hay presentes lesiones preneoplásicas. Por tanto, se cree que los folatos inhiben el desarrollo del cáncer cuando se usan de forma preventiva, pero se cree que potencian la progresión del cáncer una vez que el cáncer ha comenzado a desarrollarse. Puesto que se sabe que los folatos están implicados en la síntesis de nucleótidos y en el crecimiento celular, se esperaba que tuvieran dicho efecto promotor del cáncer. Además, las células cancerosas con frecuencia regulan positivamente los receptores de folato para satisfacer su elevada necesidad de nucleótidos para soportar la síntesis del ADN y el crecimiento, por tanto, se espera un mayor riesgo de promoción del crecimiento tumoral con la administración de folato (Ulrich, *Am. J. Clin. Nutr.* (2007), volumen 86, páginas 271-273).

Por tanto, los antifolatos, tales como metotrexato y pemetrexed, se han utilizado como agentes quimioterápicos para el tratamiento del cáncer, al ser capaces de inhibir una o más de las enzimas implicadas en el metabolismo de los folatos y los nucleótidos, por ejemplo, TS y/o DHFR. Las fluoropirimidinas, tales como 5-fluorouracilo (5-FU), se han utilizado de forma similar como agentes quimioterápicos, al ser capaces de inhibir la TS. Sin embargo, los antifolatos, así como las fluoropirimidinas, son citotóxicos y pueden asociarse a efectos secundarios graves para muchos pacientes.

El ácido fólico y los folatos, tales como en forma de leucovorina (también conocida como ácido folínico), levoleucovorina y metilen-THF, se han coadministrado con agentes quimioterápicos a pacientes con cáncer. Los folatos se han utilizado, por ejemplo, como agentes de rescate del metotrexato, con el fin de reducir los efectos secundarios tóxicos del metotrexato y el tratamiento con antifolatos multidireccional (Borsi et al, *Pediatric Hematology and Oncology* 1990, volumen 7, páginas 347-363; documento EP 1 699 462 B1).

El ácido fólico, la leucovorina y el metilen-THF también se han utilizado en combinación con 5-FU, con el fin de potenciar el efecto antitumoral del 5-FU.

Chéradame et al, *European Journal of Cancer* 1997, vol. 33, N.º 6, páginas 950-959, investiga los factores predictores relacionados con el folato de la citotoxicidad del 5 FU en presencia o ausencia de ácido *l*-folínico.

Los documentos US 5 376 658, US 2007/0099866 A1 y WO 2007/064968 desvelan el uso de tetrahidrofolato (THF) y/o metilen-THF para potenciar el efecto citotóxico y, por tanto, el efecto quimioterápico del 5-FU.

El documento US2007/0280944 A1 desvela el uso de metilen-THF en combinación con 5-FU para el tratamiento del cáncer, basándose en el descubrimiento de que el metilen-THF no solo aumenta la eficacia del 5-FU, sino que también reduce la toxicidad para el paciente del 5-FU. Además, se administra al menos un fármaco antineoplásico adicional al paciente. El fármaco antineoplásico adicional puede ser, por ejemplo, un anticuerpo anti-EGFR tal como cetuximab.

El documento WO 2008/109349 A1 desvela una pauta de tratamiento para el tratamiento del cáncer, que comprende administrar 5-FU y metilen-THF al paciente determinados días y administrar capecitabina (comercializada como Xeloda®) al paciente en los días intermedios. La capecitabina es análoga al 5-FU, pero se administra al paciente por vía oral. En ciertas realizaciones, el tratamiento incluye adicionalmente la coadministración de un agente quimioterápico, por ejemplo, cetuximab.

El documento US 2011/0052581 A1 desvela un método para el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico mediante la administración de picoplatino junto con cetuximab y opcionalmente con 5-FU y leucovorina.

Por tanto, se ha utilizado cetuximab junto con 5-FU y folatos, tales como leucovorina y metilen-THF. En estas pautas de tratamiento, los folatos se han utilizado con el fin de potenciar el efecto del 5-FU.

Sumario de la invención

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que el folato metilen-THF potencia el efecto antineoplásico del inhibidor de EGFR cetuximab, incluso en ausencia de 5-FU. Es decir, este folato parece tener una capacidad intrínseca para aumentar la eficacia del tratamiento con cetuximab. El mecanismo detrás de esta propiedad no se ha dilucidado, pero puede deberse a una propiedad antineoplásica intrínseca inesperada del propio folato o a un mecanismo sinérgico entre el folato y el receptor de EGFR y/o el inhibidor de EGFR. Por tanto, la presente invención demuestra una nueva combinación de metilen-THF y cetuximab, en ausencia o aislamiento del 5-FU, para el tratamiento del cáncer.

La nueva combinación de metilen-THF y cetuximab, sin 5-FU, proporciona una pauta de tratamiento del cáncer que es más eficiente que el uso del cetuximab como agente único y que tiene menos efectos secundarios en comparación con una pauta de tratamiento que incluye 5-FU. Dicha pauta de tratamiento puede, por ejemplo, ser útil para prevenir la reaparición del cáncer. Además, un tratamiento de este tipo es útil en los casos en los que no puede usarse 5-FU, por ejemplo, porque el paciente no lo tolera.

En un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende, como componentes, metilen-tetrahidrofolato y cetuximab, para su uso en el tratamiento del cáncer.

La composición farmacéutica es para la administración en aislamiento del 5-fluorouracilo y en aislamiento de análogos, profármacos y/o metabolitos de 5-fluorouracilo. En una realización, dicho 5-fluorouracilo y/o dichos análogos, profármacos y/o metabolitos de 5-fluorouracilo se metabolizan a FdUMP.

La composición farmacéutica puede usarse para la inhibición del crecimiento tumoral o la reducción del volumen de un tumor. El tumor puede ser un tumor sólido o no sólido, preferentemente un tumor sólido.

Son ejemplos de inhibidores de EGFR gefitinib, erlotinib y lapatinib, y anticuerpos policlonales o monoclonales inhibidores de EGFR tales como cetuximab, panitumumab, zalutumumab, nimotuzumab y matuzumab, o combinaciones de los mismos. Otros inhibidores de EGFR se enumeran en la Tabla A. De acuerdo con la invención, el inhibidor de EGFR es el anticuerpo monoclonal inhibidor de EGFR cetuximab.

5 En una realización, el metilen-tetrahidrofolato es [6R]-metil-tetrahidrofolato.

10 En una realización, el metilen-tetrahidrofolato de la composición farmacéutica es para la administración no más tarde de 24 horas antes de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo. En otras realizaciones, es para la administración no más tarde de 36 horas o 48 horas antes de la administración de 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo.

15 En otras realizaciones, el metilen-tetrahidrofolato de la composición farmacéutica es para la administración como pronto 6 horas, 24 horas, 48 horas, una semana o 12 días después de la administración de 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo.

20 En otras realizaciones más, la composición farmacéutica es para la administración no más tarde de una semana antes de la administración de 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo, y/o para la administración como pronto una semana después de la administración de 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo.

25 En una realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención es para la administración en aislamiento del 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo durante un período de tiempo de al menos tres meses.

El metilen-tetrahidrofolato y el inhibidor de EGFR cetuximab de la composición farmacéutica pueden formularse en diferentes composiciones farmacéuticas o en una composición farmacéutica común.

30 En una realización, el inhibidor de EGFR cetuximab se administra en una cantidad de al menos 50 mg/m², preferentemente al menos 100 mg/m² y más preferentemente al menos 250 mg/m², 400 mg/m² o 500 mg/m², y como máximo 1000 mg/m².

35 El metilen-tetrahidrofolato puede ser para la administración en una cantidad de al menos 10 mg/m², preferentemente al menos 20 mg/m², más preferentemente al menos 50 mg/m², mucho más preferentemente al menos 100 mg/m², 200 mg/m² o 500 mg/m² y como máximo 5 g/m².

40 En diferentes realizaciones, el metilen-tetrahidrofolato es para la administración una o dos veces al día, cada segundo o tercer día, una vez a dos veces a la semana o una vez cada dos o tres semanas. El inhibidor de EGFR cetuximab puede administrarse una vez al día, cada segundo o tercer día, una vez a dos veces a la semana o una vez cada dos o tres semanas.

45 La composición farmacéutica de la presente invención puede ser para el tratamiento de un cáncer seleccionado entre cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer gastrointestinal, cáncer de vesícula biliar, cáncer de vías biliares, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer mesotelioma, cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer endometrial, cáncer de cuello de útero, linfoma periférico de linfocitos T (LPLT), melanoma, tumores cerebrales, adenocarcinoma, cáncer de esófago y osteosarcoma.

50 Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 muestra las principales vías metabólicas mediante las cuales el folato repercute en la síntesis, reparación y metilación del ADN.

55 La Fig. 2 muestra el desarrollo de la mediana del volumen tumoral a lo largo del tiempo en los grupos de animales del ejemplo 1, que reciben vehículo, cetuximab, cetuximab con metilen-THF, cetuximab con 5-FU y cetuximab con 5-FU y metilen-THF, respectivamente.

La Fig. 3 muestra un gráfico de Kaplan Meier que muestra el tiempo hasta el criterio de valoración, como se define en el ejemplo 1, para los animales de los grupos respectivos del ejemplo 1.

La Fig. 4 muestra el desarrollo de la mediana del peso corporal a lo largo del tiempo en los grupos de animales respectivos del ejemplo 1.

60 Descripción detallada

65 En el trabajo de investigación que condujo a la presente invención, los inventores descubrieron sorprendentemente que el metilen-tetrahidrofolato (metilen-THF) tiene la capacidad de potenciar la eficacia del cetuximab como agente antineoplásico, cuando se usa en aislamiento del 5-FU (véase el ejemplo 1, Fig. 2 y 3). Además, se descubrió que

los efectos secundarios tóxicos cuando se administraban metilen-THF y cetuximab se reducían en comparación con la administración de metilen-THF y cetuximab en combinación con 5-fluorouracilo (5-FU) (véase el ejemplo 1, Fig. 4). Estos descubrimientos condujeron a los inventores a proporcionar una nueva combinación de metilen-THF y cetuximab, en ausencia o en aislamiento del 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo, para el tratamiento del cáncer. La nueva combinación de metilen-THF y cetuximab, sin 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo, proporciona una pauta de tratamiento del cáncer que es más eficiente que el uso de cetuximab como agente único y que tiene menos efectos secundarios en comparación con una pauta de tratamiento que incluye 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo. Además, un tratamiento de este tipo es útil en casos en los que no puede usarse 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo, por ejemplo, porque el paciente no lo tolera.

Como se ha descrito anteriormente, los folatos, tales como en forma de leucovorina (ácido fólico), tetrahidrofolato (THF) y metilen-THF, son sustancias endógenas que son esenciales para la división celular y el crecimiento celular. Para la terapia contra el cáncer, se han utilizado para aliviar los efectos secundarios graves del metotrexato y el tratamiento con antifolatos multidireccional (Borsi et al, *Pediatric Hematology and Oncology* 1990, volumen 7, páginas 347-363; documento EP 1 699 462 B1) y/o para potenciar el efecto antitumoral del 5-FU y sustancias análogas tales como la capecitabina.

Los folatos alimentarios en general están disponibles en dos formas complementarias, ácido fólico y leucovorina. La administración oral de ácido fólico requiere una etapa de desconjugación en el intestino delgado, así como una etapa de reducción a folatos reducidos en el hígado, con el fin de estar disponibles para la captación en las células del cuerpo. La administración oral de leucovorina (también denominada ácido fólico o 5-formiltetrahidrofolato) por otro lado, elude estas etapas de desconjugación y reducción. La leucovorina parece ser una forma de folato más metabólicamente activa que el ácido fólico y, como folato reducido, podría cruzar directamente la barrera hematoencefálica. Al igual que el ácido fólico, la leucovorina debe metilarse para convertirse en metabólicamente activa. La etapa de metilación del ácido fólico requiere niveles adecuados de serina y una enzima serina hidroxil-metil-transferasa (SHMT) funcional. La complementación con los folatos reducidos metilen-THF y metil-tetrahidrofolato (metil-THF) tiene la ventaja de eludir esta etapa de metilación.

La Fig. 1 resume las principales vías metabólicas por las cuales el folato y la homocisteína tienen repercusión sobre la síntesis, reparación y metilación del ADN. La enzima MTHFR equilibra la metilación del ADN y las vías de síntesis de ADN para mantener una homeostasis normal. (TFR = transportador de folato reducido; FPGS = folilpoliglutamato sintasa; GGH = γ -glutamil hidrolasa; TS = timidilato sintasa; THF = tetrahidrofolato; MTHFR = metilen-tetrahidrofolato reductasa; MS = metionina sintasa; SAM = S-adenosilmetionina; DPD = dihidro-pirimidina deshidrogenasa; B2 = riboflavina; B6 = piridoxina; B12 = cobalamina).

El transportador de folato reducido, TFR-1, es el principal transportador de folatos reducidos hacia las células (Sirotnak FM, Tolner B, "*Carrier-mediated membrane transport of folates in mammalian cells*"; *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 91-122). Intracelularmente, los monoglutamatos de folato reducido se convierten en poliglutamatos por la enzima folilpoliglutamato sintasa (FPGS) (Shane B, "*Folypolyglutamate synthesis and role in the regulation of one-carbon metabolism*", *Vitam Horm* 1989; 45: 263-335). La forma de poliglutamato del tetrahidrofolato se convierte después en 5,10-metilentetrahidrofolato (metilen-THF), necesario como donador de metilo en la conversión de dUMP en dTMP (Spears CP et al, "*Deoxyuridylate effects on thymidylate synthase-5-fluorodeoxyuridylate-folate ternary complex formation*"; *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 2985-93; Spears CP, et al "*Thymidylate synthetase inhibition in malignant tumors and normal liver of patients given intravenous 5-fluorouracil*", *Cancer Res* 1984; 44: 4144-50). La conversión es catalizada por la timidilato sintasa (TS). El metilen-THF también es el precursor del 5-metiltetrahidrofolato metabólicamente activo (metil-THF), utilizado en la re-metilación de la homocisteína. La conversión de metilen-THF en metil-THF depende de la enzima metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR).

La enzima γ -glutamil hidrolasa (GGH) cataliza la degradación de los poliglutamatos inter e intracelulares (Galivan J et al, "*Glutamyl hydrolase. Pharmacological role and enzymatic characterization*", *Pharmacol Ther* 2000; 85: 207-15).

Como se muestra, el funcionamiento apropiado de las vías de síntesis y metilación del ADN requiere riboflavina (vitamina B2), piridoxina (vitamina B6) y cobalamina (vitamina B12), además de folatos. Los niveles inadecuados de cualquiera de estos metabolitos darán como resultado niveles elevados de homocisteína. La deficiencia de piridoxina también alterará la capacidad celular para producir glutatión, el antioxidante principal necesario para la desintoxicación del daño por radicales libres y agentes alquilantes.

Como se muestra en la Fig. 1, el metilen-THF es un metabolito intracelular normal del ácido fólico, para su uso en la síntesis de timidilato por la timidilato sintasa (TS). Lo mismo es cierto con respecto a los poliglutamatos de metilen-THF. El metilen-THF también es utilizado por otras varias enzimas, incluyendo la metilen-tetrahidrofolato reductasa, la serina hidroximetilasa y la CI-tetrahidrofolato sintasa y la metilen-tetrahidrofolato deshidrogenasa. Estas interconversiones que usan metilen-THF son esenciales para la síntesis de purinas, la síntesis de aminoácidos y el metabolismo lipídico. Por tanto, el metilen-THF se ubica en un punto de ramificación metabólica como sustrato para al menos cuatro enzimas diferentes (Spears et al, Patente de los EE.UU. N.º 5.376.658).

Por tanto, desde hace mucho tiempo se sabe que el metilen-THF propaga el crecimiento celular actuando como un donador de un carbono en la conversión entre dUMP y dUTP, realizada por la enzima Timidilato Sintasa (TS) y se esperaba, por tanto, que tuviera un efecto promotor del cáncer.

5 Como se ha indicado anteriormente, estudios previos han demostrado que el estado del folato puede modular la toxicidad y la eficacia de la quimioterapia contra el cáncer. Por tanto, se han utilizado ácido fólico y leucovorina en combinación con fármacos antineoplásicos, por ejemplo, metotrexato, con el fin de mitigar sus efectos citotóxicos, y 5-FU para aumentar su efecto antineoplásico.

10 Por tanto, se sabe que el ácido fólico, la leucovorina y su metabolito metilen-THF potencian el efecto quimioterápico del 5-FU. La eficacia antineoplásica potenciada se consigue mediante metilen-THF, que refuerza el efecto inhibitor del 5-FU sobre la timidilato sintasa (TS). El metilen-THF induce este aumento de la inhibición mediante la formación de un complejo ternario con TS y FdUMP, que es un metabolito de 5-FU, fortaleciendo de este modo la unión de FdUMP a TS. Por tanto, en ausencia de metilen-THF, FdUMP se une a TS de forma extremadamente débil. Sin embargo, en presencia de un gran exceso de metilen-THF, incluso niveles bajos de FdUMP se unen a TS. En presencia de metil-THF en exceso los complejos ternarios entre TS, metil-THF y FdUMP son estables y no se produce actividad de TS significativa. Esta inhibición eficiente de la TS conduce a un estado de la célula sin timidina, a una mayor incorporación incorrecta de uracilo en el ADN y una mayor incorporación errónea de uracilo en el ADN y a la inhibición del crecimiento de las células tumorales y a la muerte celular. Puesto que el metilen-THF es el principio activo del metabolismo del ácido fólico o de la leucovorina, el uso de este folato endógeno es mucho más favorable que el uso de ácido fólico o leucovorina.

Para la presente invención, las sustancias que son análogas a 5-FU son sustancias que se metabolizan a FdUMP. Los ejemplos incluyen capecitabina (Xeloda®), floxuridina (5-fluorodesoxiuridina, FUDR), tegafur (Teysono™, Ftorafur®, UFT) y 5'-desoxifluorouridina (Doxifluridine™).

Por tanto, se ha demostrado anteriormente que el metilen-THF tiene un efecto antineoplásico en combinación con 5-FU mediante el fortalecimiento de la unión de FdUMP a TS. Cuando se administra metilen-THF sin la coadministración de 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo, este mecanismo no se produce y, por tanto, se espera que el metilen-THF no contribuya a ningún efecto antineoplásico. Los descubrimientos de los inventores, de que el metilen-THF, cuando se usa solamente junto con el inhibidor de EGFR cetuximab y no con 5-FU, contribuye a un aumento de la actividad inhibitora tumoral es, por tanto, muy sorprendente (véase el ejemplo 1).

Por tanto, para la presente invención, el metilen-THF en combinación con cetuximab se proporciona en aislamiento del 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo, para el tratamiento del cáncer.

Un inhibidor de EGFR puede ser un inhibidor de EGFR de molécula pequeña o un anticuerpo monoclonal inhibidor de EGFR. Los ejemplos de inhibidores de EGFR de molécula pequeña incluyen gefitinib, erlotinib y lapatinib. Los ejemplos de anticuerpos monoclonales inhibidores de EGFR incluyen cetuximab, panitumumab, zalutumumab, nimotuzumab y matuzumab. Los inhibidores de EGFR que se encuentran actualmente en desarrollo se enumeran en la Tabla A. El metilen-THF puede usarse en combinación con cetuximab para el tratamiento del cáncer. El metilen-THF es un metabolito de folato que en general se sabe que existe en equilibrio con THF (véase, por ejemplo, la Fig. 1). El metilen-THF es convertido en metil-THF por la enzima metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Además, el metil-THF es un precursor de THF y metilen-THF.

Tabla A

Producto	Empresa	Principio activo	Tipo de sustancia	Indicación
BIBW2948BS	Boehringer Ingelheim GmbH (Privado)	-	-	Bronquitis (Bronquitis obstructiva crónica)
CGP59326A	Novartis AG (NVS)	-	-	Tumores sólidos
CP545130	Pfizer Inc (PFE)	-	-	Infecciones por virus del papiloma humano
EDP13	BioLineRx, Ltd (BLRX (TASE))	-	-	Cáncer (cánceres de origen epitelial)
HMPL309	Hutchison MediPharma Ltd (Privado)	-	-	Cáncer
JNJ26483327	Johnson & Johnson (JNJ)	-	-	Tumores sólidos (tumores sólidos no especificados)
Nuevo inhibidor de tirosina cinasa	Mebiopharm Co Ltd (Privado)	-	-	Cáncer
Tovok con Cetuximab	Boehringer Ingelheim GmbH (Privado)	afatinib; cetuximab; sirolimus	Molécula pequeña + mAb	Cáncer de pulmón no microcítico

Producto	Empresa	Principio activo	Tipo de sustancia	Indicación
AG1478	Algen Biopharmaceuticals Inc. (Privado)	-	Molécula pequeña	Psoriasis
AL6802	Advenchen Laboratories, LLC (privada) Simcere Pharmaceutical Group. (SCR)	-	Molécula pequeña	Cáncer
CO1686	Avila Therapeutics Inc (Privado) Clovis Oncology Inc (CLVS)	-	Molécula pequeña	Cáncer de pulmón no microcítico
MDX214	Bristol-Myers Squibb Company (BMY)	-	Molécula pequeña	Cáncer (Cáncer que expresa EGFr)
MT062	Medisyn Technologies, Inc. (Privado)	-	Molécula pequeña	Melanoma (melanoma maligno)
111In-NLS-nimotuzumab	YM BioSciences Inc. (YM (TSX))	nimotuzumab	mAb	Cáncer de mama
ABT806	Abbott Laboratories (ABT)	-	mAb	Cáncer
AFM21	Affimed Therapeutics AG (Privado)	-	mAb	Tumores sólidos
BIOMAb EGFR	Biocon Ltd (Código de Stock Número: 532523 (BSE)) Ferozsons Laboratories Limited (FEROZ (KASE))	nimotuzumab	mAb	Cáncer de cabeza y cuello (Cáncer avanzado de células escamosas de cabeza y cuello)
CetuGEX	GLYCOTOPE GmbH (Privado)	-	mAb	Tumores sólidos (tumores sólidos avanzados)
CIMAher	YM BioSciences Inc. (YM (TSX)) Eurofarma (Privado)	nimotuzumab	mAb	Tumor cerebral (astrocitoma maligno en pediatría)
DXL1218	InNexus Biotechnology Inc. (IXS (TSXV))	anticuerpo monoclonal del receptor del factor de crecimiento epidérmico	mAb	Cáncer colorrectal (Cáncer colorrectal metastásico)
anticuerpo EGFR BiTE	Micromet Inc (MITI)	anticuerpo del receptor del factor de crecimiento epidérmico (recombinante)	mAb	Tumores sólidos (Adenocarcinoma)
Anticuerpo monoclonal de EGFR GTC	GTC Biotherapeutics (Privado)	anticuerpo monoclonal del receptor del factor de crecimiento epidérmico	mAb	Cáncer
EMD72000	EMD Serono, Inc. (Privado)	matuzumab	mAb	Cáncer de ovario (cáncer de ovario recurrente)
Erbix	Bristol-Myers Squibb Company (BMY) Eli Lilly & Co (LLY) ImClone Systems (Privado) Merck Serono SA (Privado)	cetuximab	mAb	Cáncer de endometrio (cáncer de endometrio progresivo o recurrente)
hu806	Instituto Ludwig para la investigación del cáncer Ltd (Privado)	-	mAb	Cáncer
HuMax-EGFr	Genmab A/S (GEN (CPSE))	zalutumumab	mAb	Cáncer de cabeza y cuello (Carcinoma avanzado de células escamosas de cabeza y cuello)
IMC11 F8	Eli Lilly & Co (LLY) ImClone Systems (Privado)	necitumumab	mAb	Tumores sólidos (tumores sólidos avanzados)
MDP01	Med Discovery SA (Privado)	-	mAb	Cáncer
Anticuerpo Monoclonal 806 LIFE SCIENCE	Life Science Pharmaceuticals (LSP) (Privado)	-	mAb	Cáncer
Nimotuzumab	BioTech Pharmaceuticals Co., Ltd. (Privado)	cisplatino; docetaxel; irinotecán; nimotuzumab	mAb	Tumor cerebral (tumores cerebrales pediátricos)

Producto	Empresa	Principio activo	Tipo de sustancia	Indicación
RadioThereCIM	YM BioSciences Inc. (YM (TSX))	-	mAb	Tumor cerebral
RG7160	F. Hoffmann-La Roche Ltd (ROG (SWX))	anticuerpo monoclonal del receptor del factor de crecimiento epidérmico	mAb	Cáncer de cabeza y cuello
RG7597	F. Hoffmann-La Roche Ltd (ROG (SWX))	anticuerpo monoclonal del receptor del factor de crecimiento epidérmico	mAb	Tumores sólidos (Tumores epiteliales metastásicos)
Sym004	Symphogen A/S (Privado)	anticuerpo del receptor del factor de crecimiento epidérmico (recombinante)	mAb	Tumores sólidos (tumores sólidos avanzados)
TheraCIM	Innogene Kalbiotech (Privado)	nimotuzumab	mAb	Cáncer de cuello de útero
Vectibix	Amgen Inc (AMGN)	panitumumab	mAb	Tumores sólidos (Tumores sólidos en pediatría)
YMB1005	YM BioSciences Inc. (YM (TSX))	anticuerpo monoclonal del receptor del factor de crecimiento epidérmico	mAb	Cáncer

Son expresiones alternativas para metilen-THF, por ejemplo, 5,10-metilen-tetrahidrofolato, 5,10-metilen-THF, CH₂FH₄ y 5,10-CH₂-FH₄. El metilen-THF puede usarse, por ejemplo, en forma de su sal de Ca o Na₂ o en forma de diversas sales de sulfato. Adicionalmente, de acuerdo con la presente invención, puede usarse el ácido libre, es decir, ácido 5,10-metilen-tetrahidrofólico o ácido 5,10-metilentetrahidropteroilglutámico (5,10-CH₂-H₄-PteGlu).

Son expresiones alternativas para metil-THF, por ejemplo, 5-metil-THF, CH₃H₄F y 5-CH₃-H₄F. El metil-THF puede usarse, por ejemplo, en forma de su sal de Ca o Na₂ o en forma de diversas sales de sulfato. Adicionalmente, puede usarse el ácido libre, es decir, ácido 5-metil-tetrahidrofólico o ácido metiltetrahidropteroil-glutámico (5-CH₃-H₄PteGlu).

Son expresiones alternativas para THF, por ejemplo, H₄F, FH₄ y 5,6,7,8-tetrahidrofolato. El THF puede usarse, por ejemplo, en forma de su sal de Ca o Na₂ o en forma de diversas sales de sulfato. Adicionalmente, puede usarse el ácido libre, es decir, ácido tetrahidrofólico o ácido tetrahidropteroil-glutámico (H₄PteGlu).

El THF, el metilen-THF y el metil-THF pueden existir en varias formas isoméricas, sin embargo, se prefieren los isómeros biológicamente activos de metilen-THF de acuerdo con la presente invención. Como se usa en el presente documento, "isómero biológicamente activo" se refiere a un isómero endógeno de THF, metilen-THF o metil-THF, es decir, una forma natural que se adapta a los sistemas de enzimas del cuerpo. Un isómero biológicamente activo natural de THF es [6S]-THF también denominado ácido [6S]-tetrahidrofólico. Un isómero biológicamente activo natural de metilen-THF es [6R]-metilen-THF también denominado ácido [6R]-5,10-metilentetrahidrofólico (Modufolin®). Y un isómero biológicamente activo natural de metil-THF es [6S]-metil-THF también denominado ácido [6S]-5-metiltetrahidrofólico.

El metilen-THF viene en diferentes formas estereoisoméricas. La mezcla racémica comprende [6R,6S]-metilen-THF (aproximadamente el 50 % de configuración 6R y el 50 % de configuración 6S). Sin embargo, la isoforma [6R]-metilen-THF (aproximadamente el 100 % de la configuración 6R) es la biológicamente activa. Para la presente invención, puede usarse [6R]-metilen-THF o [6R,6S]-metilen-THF. Se prefiere la isoforma biológicamente activa, [6R]-metilen-THF, puesto que tiene un efecto antitumoral más eficiente. Pueden usarse metilen-THF o [6R]-metilen-THF tanto naturales como sintéticos. Cuanto mayor sea la porción de peso de un isómero biológicamente activo, se obtendrán mejores resultados.

El [6R]-metilen-THF para su uso de acuerdo con la presente invención tiene adecuadamente una pureza del 90 % o superior. Se prefiere una pureza del 97 % o superior. Cuanto mayor sea la porción de peso de un isómero biológicamente activo, se conseguirá una mejor estabilidad. A bajas purezas, el THF, el metilen-THF y el metil-THF son muy susceptibles a la oxidación y, por tanto, inestables.

La combinación o composición de cetuximab y metilen-THF no comprende 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo. En otras palabras, dicha combinación o composición de cetuximab y metilen-THF, se proporciona para la administración en aislamiento, o por separado, de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo. En una realización, la combinación o composición de cetuximab y metilen-THF se proporciona para el tratamiento del cáncer en aislamiento, o por separado, de otros agentes quimioterápicos. En otras palabras,

la combinación o composición de cetuximab y metilen-THF en esa realización no se administrada simultáneamente o concurrentemente con otros fármacos antineoplásicos.

5 En una realización, el metilen-THF se administra al paciente no más tarde de tres semanas, o dos semanas, o 7 días, o 5 días, o 3 días, o 48 horas, o 36 horas, o 24 horas antes de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo o, en dichas realizaciones, cualquier otro fármaco antineoplásico. En una realización, no se administra 5-FU y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo al paciente antes de que el nivel en el cuerpo de metilen-THF se haya hundido por debajo del nivel fisiológicamente activo. La semivida del metilen-THF es de aproximadamente 20 minutos, la semivida del THF es de aproximadamente 30 minutos y la semivida del metil-THF es de aproximadamente 5 horas.

10 En una realización, el metilen-THF se administra al paciente como pronto 6 horas, o 12 horas, o 24 horas, o 48 horas, 3 días, o 4 días, o 5 días, o 7 días, o dos semanas o tres semanas después de la administración de 5FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo, o cualquier otro fármaco antineoplásico, respectivamente. En una realización, el metilen-THF se administra al paciente después de que el nivel en el cuerpo del 5-FU y/o análogo, profármaco y/o metabolito del mismo, o, en dichas realizaciones, cualquier otro fármaco antineoplásico, esté debajo de un nivel fisiológicamente activo.

15 Por "proporcionado para la administración en aislamiento o por separado de" se entiende que la combinación de metilen-THF y cetuximab puede administrarse no más tarde de una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, dos meses o tres meses antes de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo o, en dichas realizaciones, cualquier otro fármaco antineoplásico, respectivamente. Es decir, cualquiera de los componentes metilen-THF o cetuximab puede administrarse no más tarde de una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, dos meses o tres meses antes de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo, o cualquier otro fármaco antineoplásico, respectivamente. Como alternativa, la combinación de metilen-THF y cetuximab puede administrarse como pronto una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, dos meses o tres meses después de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo, o cualquier otro fármaco antineoplásico, respectivamente. Es decir, uno de los componentes metilen-THF o cetuximab puede administrarse no antes de una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, dos meses o tres meses después de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo, o cualquier otro fármaco antineoplásico.

20 Pueden administrarse metilen-THF y cetuximab simultáneamente o consecutivamente. En caso de la administración consecutiva, primero se administra metilen-THF y después se administra cetuximab o primero se administra cetuximab y después metilen-THF.

25 El intervalo entre las administraciones depende de las características del fármaco y puede variar de horas a días. El metilen-THF puede administrarse al paciente una o dos veces al día, cada dos o tres días, una vez a dos veces a la semana o una vez cada dos o tres semanas. El cetuximab puede administrarse, por ejemplo, cada dos o tres días, una vez a dos veces por semana o una vez cada dos o tres semanas.

30 La combinación de metilen-THF y cetuximab puede administrarse al paciente en aislamiento del 5-FU, y/o análogos, profármacos y/o metabolitos del mismo, u otros fármacos antineoplásicos durante un período de tiempo de al menos un día o al menos una semana, o dos semanas, o tres semanas, o un mes, o dos meses, o tres meses, o seis meses, o un año, o dos años. En una realización, se administra durante un período de tiempo de al menos tres meses.

35 El cetuximab se administra preferentemente en una dosis de 10 mg a 1000 mg, preferentemente de 100-800 mg. La dosis para infusión intravenosa es de al menos 50 mg/m² (área de superficie corporal), preferentemente al menos 100 mg/m² y más preferentemente al menos 250 mg/m² o aproximadamente 400 mg/m². La dosis máxima es de aproximadamente 500 mg/m². La dosis se ajustará individualmente y, por tanto, puede variar, por ejemplo, dependiendo del estado y la fisiología del paciente. Puede, por ejemplo, administrarse por vía subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intranasal u oral.

40 El metilen-THF se administra preferentemente en una dosis de 100 pg a 1000 mg, preferentemente una dosis de 100-200 mg. La dosis por día varía entre 1 mg y 1000 mg, en particular entre 100 mg y 500 mg. La dosis es de al menos 10 mg/m², preferentemente al menos 20 mg/m², más preferentemente al menos 50 mg/m², mucho más preferentemente al menos 100 o 200 mg/m². La dosis máxima es de aproximadamente 5 g/m² o preferentemente 1 mg/m² o 500 mg/m². La dosis se ajustará individualmente y, por tanto, puede variar, por ejemplo, dependiendo del estado y la fisiología del paciente. Puede, por ejemplo, administrarse por vía subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intranasal u oral.

45 La composición farmacéutica de acuerdo con la invención también puede comprender ingredientes no activos, tales como un vehículo inerte o adyuvantes farmacéuticamente aceptables, excipientes, conservantes, ácido ascórbico, agentes reductores, ascorbato, antioxidantes, etc., que son bien conocidos por los expertos en la materia.

La composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede formularse mediante métodos de fabricación convencionales. La parte de metilen-THF de la combinación puede fabricarse, por ejemplo, mediante métodos de fabricación similares a los utilizados para la producción de leucovorina. El metilen-THF de la presente invención también puede fabricarse como se describe en el documento PCT/EP2004/006944 y los documentos de patente relacionados con el mismo.

Son ejemplos de cánceres que se han de tratar de acuerdo con la invención cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer gastrointestinal, cáncer de vesícula biliar, cáncer de vías biliares, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer mesotelioma, cáncer de pulmón, incluyendo cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de cuello de útero, linfoma periférico de linfocitos T (LPLT), melanoma, tumores cerebrales, adenocarcinoma, cáncer de esófago y osteosarcoma. Sin embargo, puede tratarse cualquier cáncer con la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención.

En una realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención es para el tratamiento del cáncer, en la que el tumor primario, las metástasis ganglionares y/o la metástasis a distancia tienen un estado KRAS de tipo silvestre o son de tipo silvestre en los codones KRAS 12 y 13.

Un método para el tratamiento del cáncer puede comprender administrar a un paciente una cantidad farmacéuticamente activa de un inhibidor de EGFR y una cantidad farmacéuticamente activa de metilen-THF, THF o metil-THF.

La expresión "agente quimioterápico" o "agente antineoplásico" o "fármaco antineoplásico" como se usa en el presente documento se refiere a un medicamento para el tratamiento del cáncer, es decir, se refiere a un agente/principio activo que tiene un efecto antineoplásico o antitumoral. Un efecto de este tipo puede implicar la inhibición del crecimiento tumoral, la reducción del volumen tumoral, la inducción de la muerte de células tumorales, la inhibición de la formación de metástasis, la inhibición de la reaparición tumoral.

El término "paciente", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier mamífero humano o no humano que necesite ser tratado con los métodos, el kit o las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención.

El término "tratamiento" como se usa en el presente documento se refiere tanto al tratamiento con el fin de curar o aliviar los síntomas de diferentes tipos de cáncer, como al tratamiento con el fin de prevenir el desarrollo de cáncer o prevenir la reaparición del cáncer. En particular, los tumores sólidos son muy adecuados para ser tratados de acuerdo con la invención. Sin embargo, pueden tratarse tumores tanto sólidos como no sólidos.

La expresión "cantidad farmacéuticamente activa" como se usa en el presente documento se refiere a una dosis de una sustancia que conducirá al efecto farmacológico y/o terapéutico deseado. El efecto farmacológico y/o terapéutico deseado es, como se ha indicado anteriormente, curar o aliviar los síntomas de diferentes tipos de cáncer y prevenir el desarrollo de cáncer.

La expresión "nivel fisiológicamente activo" como se usa en el presente documento se refiere a un nivel de una sustancia dentro del cuerpo de un paciente, por ejemplo, el nivel circulante en sangre, al que se consigue el efecto fisiológico deseado. Por debajo de este nivel, el efecto fisiológico no se consigue o no es detectable. El efecto fisiológico de un fármaco antineoplásico puede ser, por ejemplo, la inhibición del crecimiento tumoral, la reducción del volumen tumoral, la inducción de la muerte de células tumorales, la inhibición de la formación de metástasis, la inhibición de la reaparición tumoral.

El término "eficacia" de un tratamiento quimioterápico o anticanceroso se relaciona con su capacidad para afectar a células tumorales y cancerosas y para mejorar los resultados clínicos del tratamiento. Dicha eficacia puede determinarse, por ejemplo, midiendo la remisión, el tiempo hasta la progresión, la tasa de respuesta y la supervivencia. Los métodos para medir dichos parámetros están bien establecidos en el campo. Por ejemplo, los efectos antitumorales pueden determinarse midiendo el tamaño del tumor y el tamaño del tumor a lo largo del tiempo.

Ejemplo

Propósito: Determinar la eficacia antitumoral del metilen-THF en combinación con cetuximab en el modelo de xenoinjerto de adenocarcinoma colorrectal LoVo. LoVo es una estirpe celular que es sensible a cetuximab y 5-FU.

Diseño del estudio: A un total de 50 ratones hembra nu/nu NCr (10 por grupo) de 8-12 semanas de edad se les inyectaron 1×10^7 células tumorales LoVo en Matrigel sc al 50 % en el flanco. Después de siete días, se les administraron inyecciones intraperitoneales de acuerdo con la pauta de la tabla 1. Los animales se controlaron individualmente. El criterio de valoración del experimento era un peso tumoral de 1000 mm^3 o 75 días, lo que ocurriera primero. Los animales que respondieron pudieron seguirse durante más tiempo. Cuando se llegó al criterio

de valoración, los animales se sacrificaron. El peso corporal (g) y el volumen tumoral (mm³) se midieron los días 1, 2, 3, 4, 5, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39, 42, 46, 49, 53, 56, 60, 63, 67, 70 y 74.

Tabla1. Grupos de tratamiento y dosificación

Grupo	Vehículo	Cetuximab (100 mg/kg, cada dos semanas x 4)	5-FU (100 mg/kg, cada semana x 3)	Metilen-THF (45 mg/kg, 3/4/3/4/3)
1	X			
2		X		
3		X		X
4		X	X	
5		X	X	X

cada dos semanas = una semana sí y una semana no
 cada semana = semanalmente
 3/4/3/4/3 = tratamiento durante tres días, sin tratamiento durante cuatro días

5 Resultados

Se muestra un resumen de los datos conseguidos en la tabla 2.

10 Tabla 2. Descripción general

Grupo	Número de TP	N.º de muertes relacionadas con el tratamiento	N.º de muertes no relacionadas con el tratamiento	Mediana del tiempo hasta el criterio de valoración (días)	Porcentaje de retraso del crecimiento tumoral (RCT)
1	10	0	0	25,5	-
2	8	0	1	56,7	122
3	8	0	0	61	139
4	5	0	0	69,4	172
5	5	0	0	72	182

Volumen tumoral

15 El cambio en la mediana del volumen tumoral a lo largo del tiempo se muestra en la figura 1. Los animales en el grupo de vehículo, es decir, el grupo 1, alcanzaron el criterio de valoración pronto. La figura indica que el metilen-THF tiene un efecto beneficioso sobre el crecimiento tumoral y potencia el efecto antitumoral del cetuximab. Sorprendentemente, se observa el efecto beneficioso del metilen-THF incluso en ausencia de 5-FU.

Tiempo de supervivencia

20 En la figura 2 se muestra un gráfico de Kaplan-Meier que muestra el tiempo hasta el criterio de valoración, es decir, cuando se alcanzó un peso tumoral de 1000 mm³ o 75 días. La curva de Kaplan-Meier (tiempo hasta el criterio de valoración) muestra un efecto beneficioso del metilen-THF, metilen-THF que potencia el efecto beneficioso del cetuximab. Un ensayo de rango logarítmico muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de tratamiento también cuando se excluye el grupo de vehículo.

Peso corporal

30 El peso corporal proporciona una indicación acerca de qué tan graves son los efectos secundarios del tratamiento, indicando el desarrollo deficiente del peso corporal efectos secundarios más adversos. Ambos grupos de tratamiento con metilen-THF, es decir, los grupos 3 y 5, muestran un desarrollo de peso corporal bastante similar al que se observa en la Figura 3. El grupo con el desarrollo de peso corporal más deficiente desde el día 28 en adelante fue el grupo 4 que recibió cetuximab y 5-FU.

35 Conclusión

40 Parece que el grupo que recibió cetuximab en combinación con 5-FU y metilen-THF tuvo el desarrollo más favorable considerando tanto el volumen tumoral, es decir, la inhibición del crecimiento tumoral, como el peso corporal, es decir, efectos secundarios menos graves. El grupo que recibió solo cetuximab tuvo el desarrollo menos favorable teniendo en cuenta el volumen tumoral, pero tuvo un aumento de peso mejor que el de los otros grupos, incluyendo el vehículo. Sorprendentemente, el metilen-THF potencia el efecto de crecimiento antitumoral del cetuximab, incluso en ausencia de 5-FU.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende como componentes:

- 5 a. metilen-tetrahidrofolato; y
 b. cetuximab;

para su uso en el tratamiento del cáncer, en la que dicha composición es para la administración en aislamiento de 5-fluorouracilo y en aislamiento de análogos, profármacos y/o metabolitos de 5-fluorouracilo.

10 2. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho 5-fluorouracilo y/o dichos análogos, profármacos y/o metabolitos de 5-fluorouracilo se metabolizan a FdUMP.

15 3. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que dicho tratamiento del cáncer es la inhibición del crecimiento tumoral.

4. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que dicho tratamiento del cáncer es la reducción del volumen de un tumor.

20 5. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el componente a) es para la administración no más tarde de 24 horas, 36 horas o 48 horas antes de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo.

25 6. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el componente a) es para la administración como pronto 6 horas, 24 horas, 48 horas, una semana o 12 días después de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo.

30 7. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que dicha composición es para la administración no más tarde de una semana antes de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo.

35 8. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que dicha composición es para la administración como pronto una semana después de la administración de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo.

9. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicha composición es para la administración en aislamiento de 5-FU y/o un análogo, profármaco y/o metabolito del mismo durante un período de tiempo de al menos 3 meses.

40 10. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el componente a) y el componente b) se formulan en diferentes composiciones farmacéuticas.

45 11. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en la que el componente a) y el componente b) se formulan en una composición farmacéutica común.

50 12. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el componente b) es para la administración en una cantidad de al menos 50 mg/m², preferentemente al menos 100 mg/m² y más preferentemente al menos 250 mg/m², 400 mg/m² o 500 mg/m² y como máximo 1000 mg/m².

55 13. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el componente a) es para la administración en una cantidad de al menos 10 mg/m², preferentemente al menos 20 mg/m², más preferentemente al menos 50 mg/m², más preferentemente al menos 100 mg/m², 200 mg/m² o 500 mg/m² y como máximo 5 g/m².

60 14. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho cáncer se selecciona entre cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer gastrointestinal, cáncer de vesícula biliar, cáncer de vías biliares, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer mesotelioma, cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer endometrial, cáncer de cuello de útero, linfoma periférico de linfocitos T (LPLT), melanoma, tumores cerebrales, adenocarcinoma, cáncer de esófago y osteosarcoma.

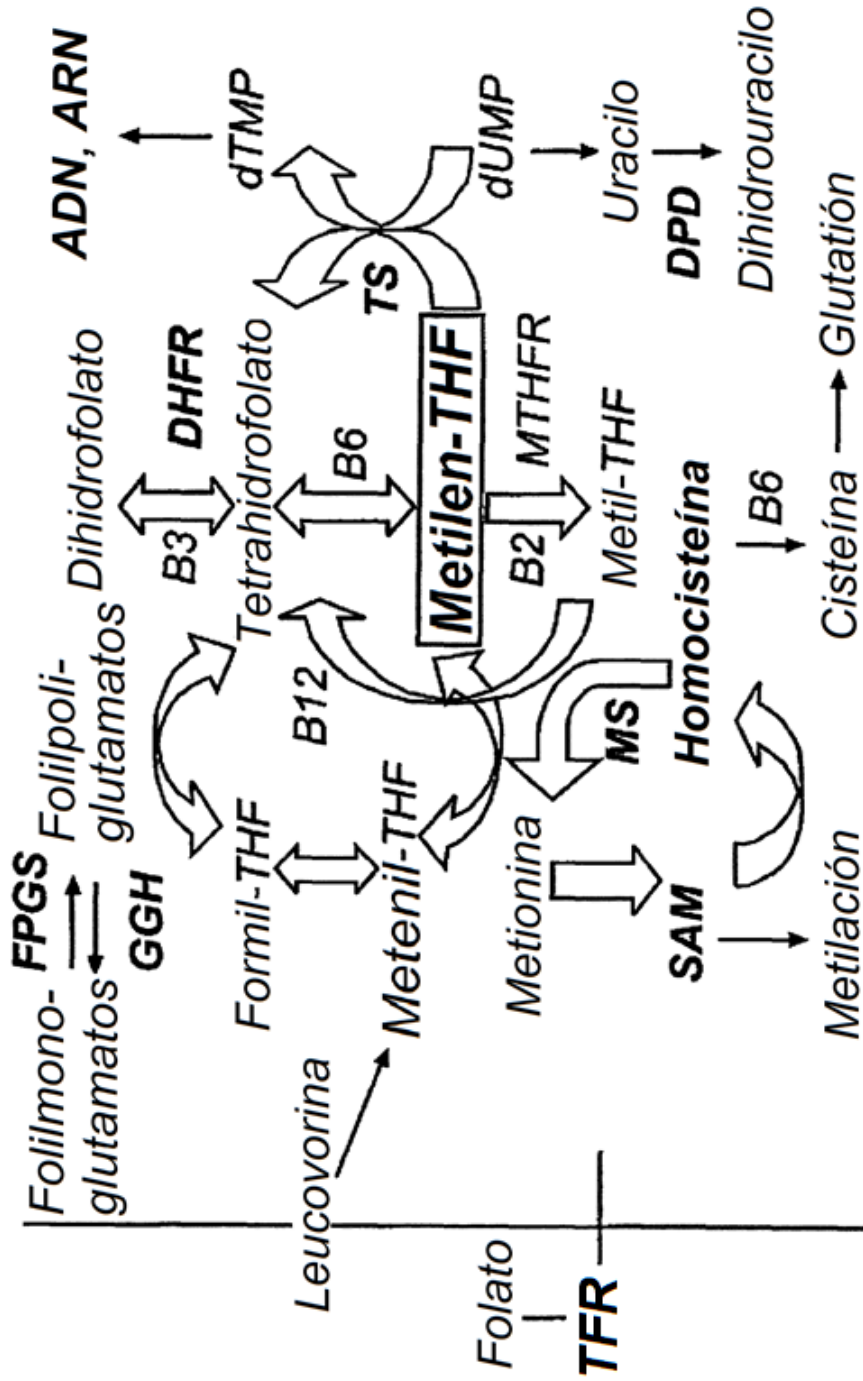


Fig. 1

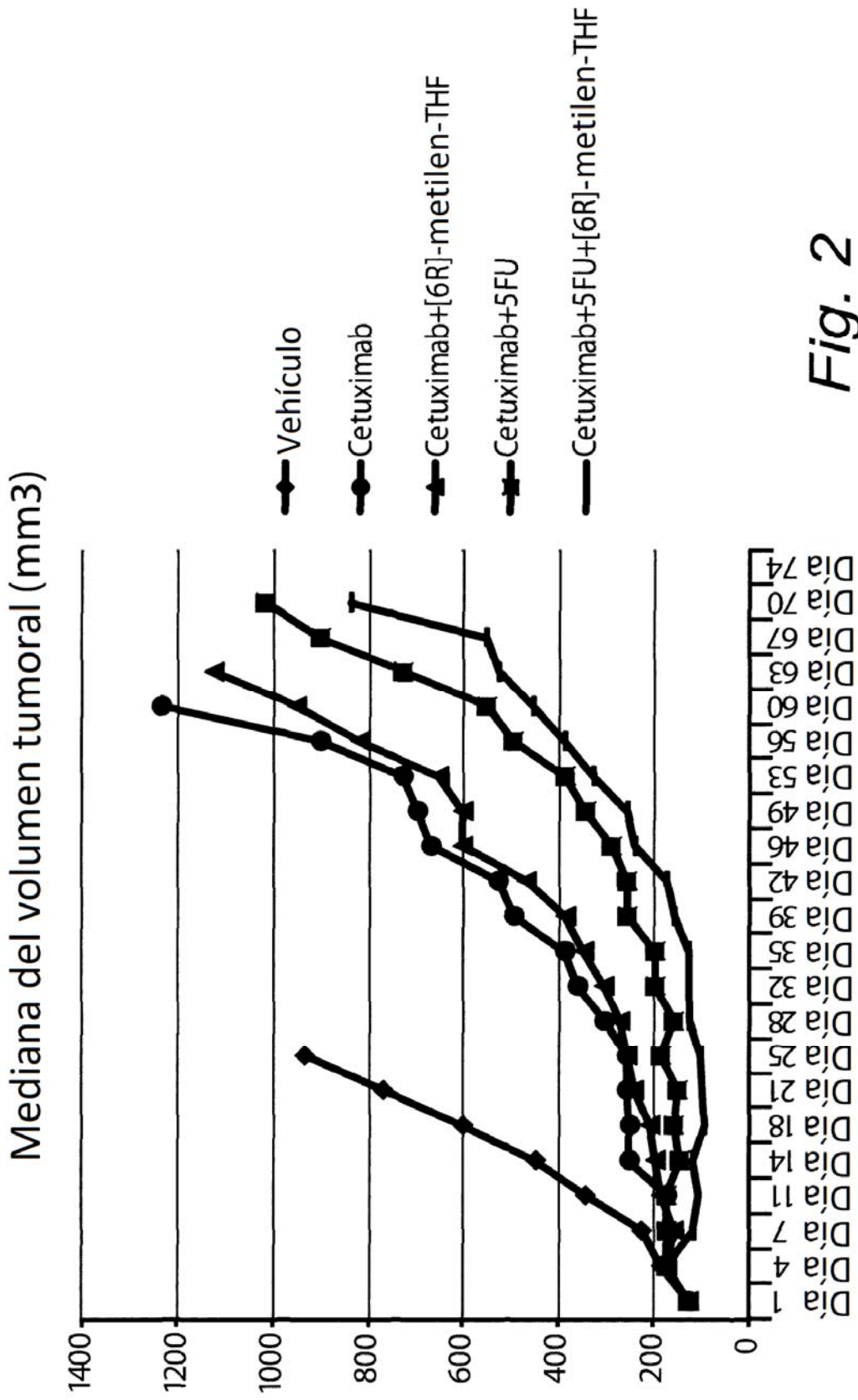


Fig. 2

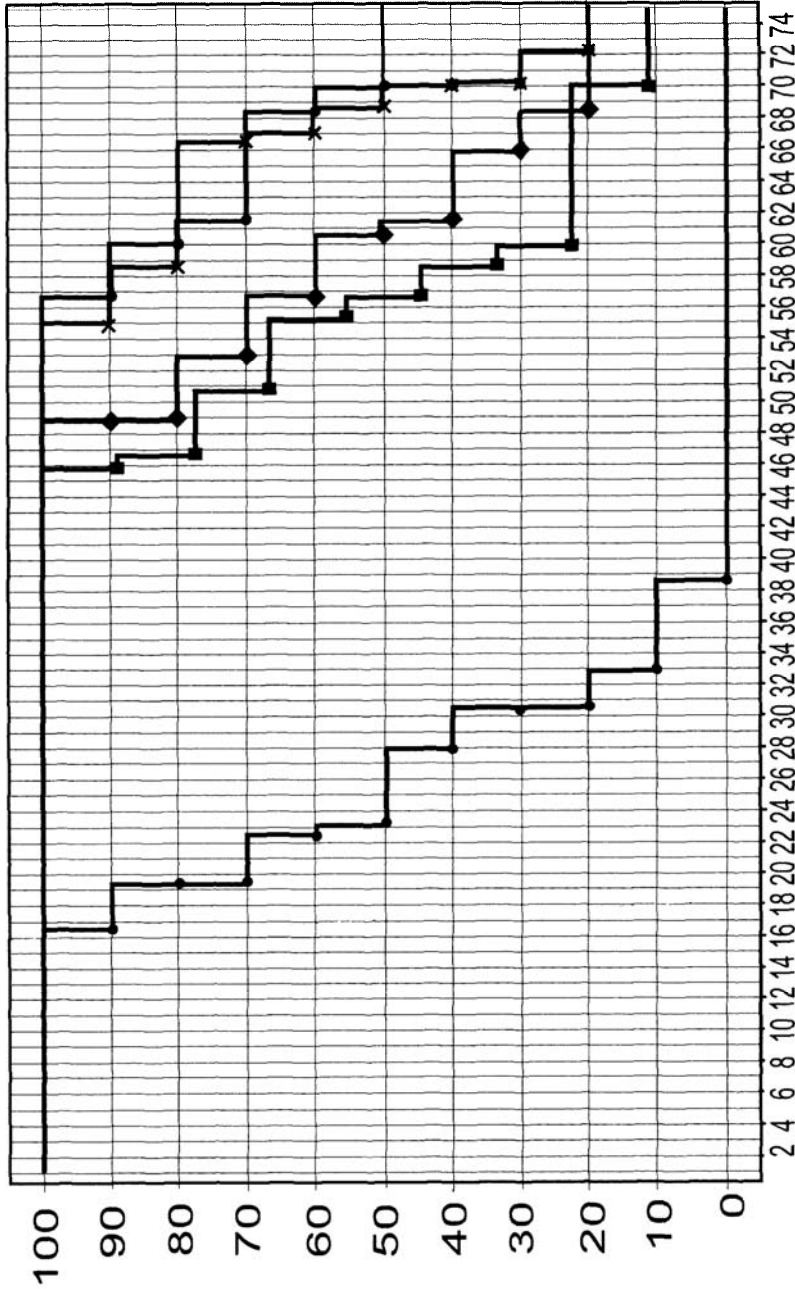


Fig. 3

- Grupo 1: vehiculo (ip, 3/4/3/4/3)
- Grupo 2: cetuximab (30mg/kg, ip, cada dos semanas x 4)
- Grupo 3: cetuximab (30mg/kg, ip, cada dos semanas x 4) Modufolin (45mg/kg, ip, 3/4/3/4/3)
- Grupo 4: cetuximab (30mg/kg, ip, cada dos semanas x 4) 5-FU (100mg/kg, ip, cada semana x 3)
- Grupo 5: cetuximab (30mg/kg, ip, cada dos semanas x 4) 5-FU (100mg/kg, ip, cada semana x 3) Modufolin (45mg/kg, ip, 3/4/3/4/3)

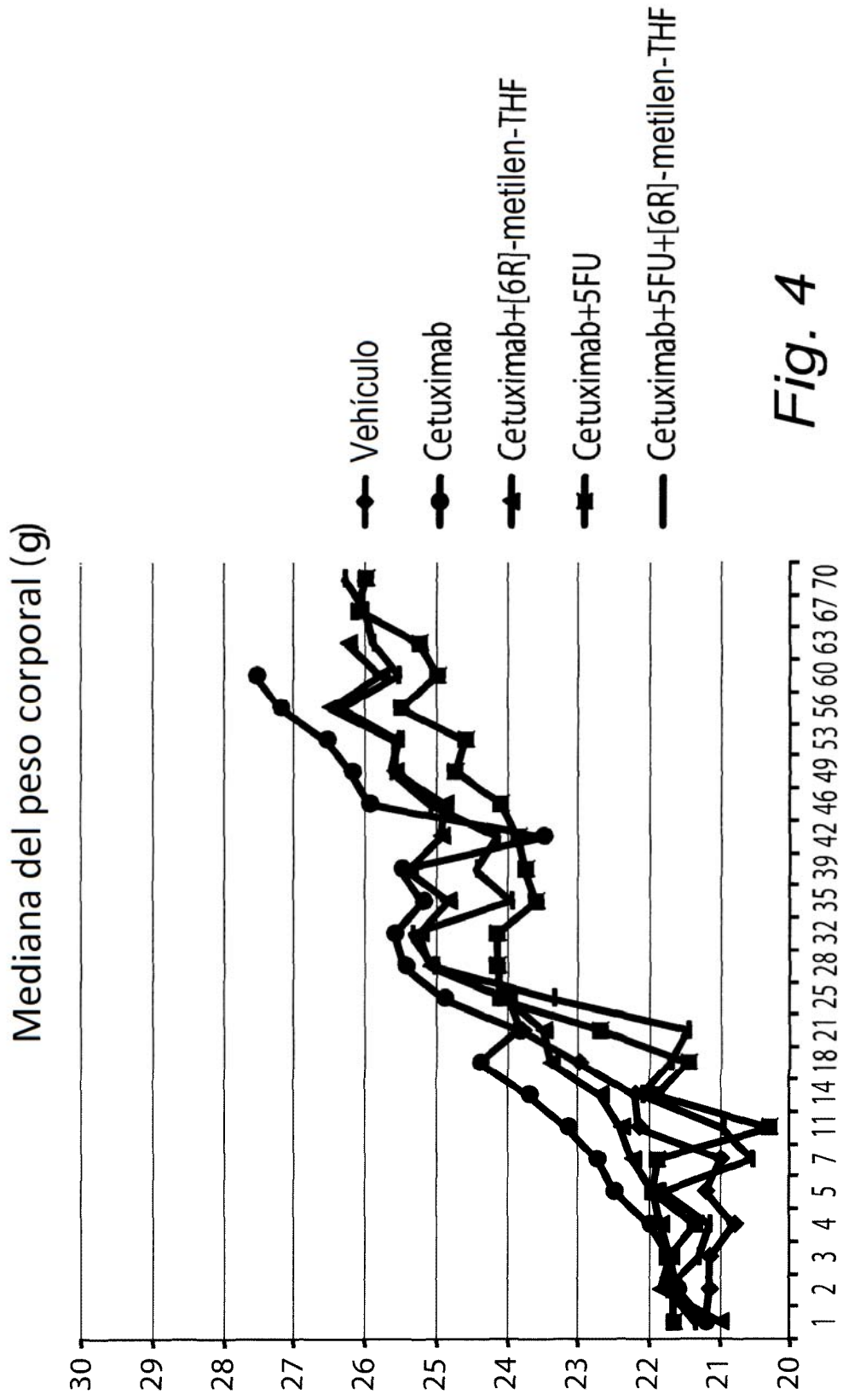


Fig. 4