

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 994 931**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/375 (2006.01)
A61K 31/045 (2006.01)
A61K 31/17 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/714 (2006.01)
A61K 35/28 (2015.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.12.2016 PCT/US2016/065079**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **15.06.2017 WO17100162**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.12.2016 E 16820404 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2024 EP 3386546**

(54) Título: **Combinación para el tratamiento efectivo del cáncer metastásico en pacientes**

(30) Prioridad:

07.12.2015 US 201562263880 P

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

04.02.2025

(73) Titular/es:

**GENERAL ONCOLOGY, INC. (100.00%)
202 Washington Street Suite 318
Brookline, MA 02445, US**

(72) Inventor/es:

GLAZIER, ARNOLD

(74) Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 994 931 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

Combinación para el tratamiento efectivo del cáncer metastásico en pacientes

5 Solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de Solicitud Provisional de los Estados Unidos Núm. 62/263 880, presentada el 7 de diciembre de 2015.

10 Antecedentes

La quimioterapia combinada ha dado altas tasas de curación para ciertos tipos de cáncer metastásico, como la leucemia infantil, el linfoma y el cáncer testicular. Sin embargo, los tipos más comunes de cáncer metastásico son actualmente incurables. Las tasas de supervivencia a 5 años de algunos cánceres metastásicos son aproximadamente las siguientes: cervical 16 %, colorrectal 12,5 %, uterino 16 %, esofágico 3,5 %, riñón 12,3 %, hígado/biliar 3 %, pulmón/bronquio 3,9 %, melanoma 16,1 %, ovárico 27,3 %, pancreático 2 %, estómago 3,9 %, vejiga 5,4 %, mama 24,3 %. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Frei E 3ra, Curative cancer chemotherapy, Cancer Res. 1985;45:6523-37; Howlader N, y otros, SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010, Instituto Nacional del Cáncer. Bethesda, MD). A pesar de décadas de investigación y cientos de miles de millones de dólares, las tasas de mortalidad por cáncer ajustadas por edad reportadas por el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos para muchos tipos de cáncer no mostraron una disminución durante un período de 35 años, de 1975-2010. Durante el mismo período, la Biblioteca Nacional de Medicina catalogó 2 143 002 artículos científicos sobre el cáncer, de los cuales 112 429 se relacionaron con el tratamiento del cáncer metastásico, y desde la década de 1950 se han publicado más de 22 300 trabajos médicos e informes científicos sobre ensayos clínicos para el cáncer metastásico y más de 152 000 trabajos científicos publicados sobre la terapia combinada contra el cáncer. A pesar de este verdadero esfuerzo científico masivo, no ha sido posible obtener respuestas completas (CR), es decir, la ausencia de todos los cánceres detectables, en pacientes con la mayoría de los tipos de cáncer metastásico. Generalmente, se necesita una reducción del 99 % o 2 log de la carga de células cancerosas para obtener una CR. Un paciente con cáncer metastásico puede tener decenas de miles de millones de células cancerosas distribuidas por todo su cuerpo: la disminución de la carga de células tumorales en 2 logaritmos aún dejaría millones a miles de millones de células cancerosas viables en el paciente; con el tiempo, esas células cancerosas podrían multiplicarse y provocar una enfermedad progresiva. Por ejemplo, la tasa de CR en cáncer pancreático mediante el uso de FOLFIRINOX, la quimioterapia más efectiva, es solo del 0,6 %. En pacientes con melanoma metastásico tratados con Nivolumab más ipilimumab, la terapia de vanguardia, la tasa de CR fue del 9,6 %. La tasa de CR en pacientes con melanoma tratados con el inhibidor de BRAF Vemurafenib fue del 1 %. Se observan tasas bajas similares de CR con la mayoría de los tipos de cánceres metastásicos. Los CR duraderos a largo plazo son aún más raros en pacientes con la mayoría de los tipos de enfermedad metastásica. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Conroy T, y otros, N Engl J Med., 12 de mayo de 2011, 364(19): 1817-25; Wolchok JD, y otros, N Engl J Med., 11 de julio de 2013, 369(2): 122-33; Chapman PB, y otros, N Engl J Med., 30 de junio de 2011, 364(26):2507-16. Ha habido miles de ensayos clínicos con un gran número de combinaciones diferentes de fármacos contra el cáncer, sin embargo, pocos regímenes de fármacos dan altas tasas de CR en pacientes con cáncer metastásico, y las curas para la mayoría de los tipos de cáncer metastásico son muy raras. Además, los pocos tipos de cáncer que actualmente son curables a una alta tasa con quimioterapia combinada se caracterizan generalmente por propiedades que confieren hipersensibilidad a un fármaco o fármacos de quimioterapia particulares. Se han gastado esfuerzos, recursos y tiempo extraordinarios sin éxito para desarrollar métodos capaces de altas tasas de CR, y aún más de 580,000 personas en los Estados Unidos mueren de cáncer metastásico cada año. Actualmente, no existen métodos para el tratamiento efectivo de la mayoría de los tipos de cáncer metastásico que puedan proporcionar altas tasas de CR o CR duraderas a largo plazo en los pacientes. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar una terapia contra el cáncer que pueda lograr altas tasas de CRS, especialmente CR duraderas a largo plazo, en pacientes con cáncer metastásico o cáncer refractario.

50 El documento WO2014/066400 describe los métodos para el tratamiento efectivo de los cánceres metastásicos que implican el tratamiento con melfalán, BCNU y agentes de ciclo redox junto con la infusión de células madre de médula ósea.

55 *In vitro*, es fácil disminuir profundamente los niveles de GSH celular (y, en consecuencia, aumentar la sensibilidad a los fármacos de reticulación de ADN, tales como el melfalán) incubando las células con agentes de ciclo redox o agentes que generan especies reactivas de oxígeno. Muchos estudios han demostrado que el ácido ascórbico se somete a la autoxidación catalizada por metales de transición para producir peróxido de hidrógeno. *In vitro*, el ácido ascórbico y el peróxido de hidrógeno pueden agotar el GSH, inducir el estrés oxidativo y matar las células. Riordan, en Patente de Estados Unidos 5 639 787 (Therapeutic method for the treatment of cancer), enseña el uso de ácido ascórbico intravenoso de alta dosis para el tratamiento del cáncer. Sin embargo, múltiples ensayos clínicos no han demostrado la actividad anticancerígena del ácido ascórbico en dosis altas en pacientes, y el ácido ascórbico no ha proporcionado una base para obtener altas tasas de respuestas completas en pacientes con cáncer metastásico. La actividad biológica del peróxido de hidrógeno es una función de la dosis por célula o la dosis por litro de fluido intracelular. La exposición de las células al ácido ascórbico o al peróxido de hidrógeno *in vitro* puede dar como resultado dosis por célula que son miles de veces más altas que las que se pueden lograr *in vivo*. El peróxido de

hidrógeno se descompone rápidamente en las células por la glutatión peroxidasa; en el proceso, el GSH se oxida a GSSG. Sin embargo, el GSSG a su vez se reduce de nuevo a GSH por la glutatión reductasa con NADPH como el reductor. La capacidad reductora de las células para GSSG supera con creces el flujo de H₂O₂ que podría generarse in vivo incluso a partir de dosis muy altas de ácido ascórbico. Esto explica en parte la ausencia de actividad anticancerígena del ácido ascórbico observado en múltiples ensayos clínicos. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Monti DA, y otros, Phase I evaluation of intravenous ascorbic acid in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer, *PLoS One.*, 2012, 7(1); Wilson MK, y otros, Review of high-dose intravenous vitamin C as an anticancer agent, *Asia Pac J Clin Oncol.*, marzo de 2014, 10(1):22-37; Stephenson CM, y otros, Phase I clinical trial to evaluate the safety, tolerability, and pharmacokinetics of high-dose intravenous ascorbic acid in patients with advanced cancer, *Cancer Chemother Pharmacol.* julio de 2013, 72(1):139-46; Hoffer LJ, y otros, Phase I clinical trial of i.v. ascorbic acid in advanced malignancy, *Ann Oncol.*, noviembre de 2008, 19(11):1969-74; Welsh JL, y otros, Pharmacological ascorbate with gemcitabine for the control of metastatic and node-positive pancreatic cancer (PACMAN): results from a phase I clinical trial, *Cancer Chemother Pharmacol.*, marzo de 2013, 71(3):765-75.

El suministro de fármacos en los tumores se ve comprometido por una serie de factores que incluyen la mala vascularización, el aumento de la presión del fluido intersticial y el aumento del flujo de fluido tumoral intersticial fuera del tumor. En consecuencia, la administración intravenosa de fármacos de ciclo redox a un paciente generalmente dará como resultado niveles de fármacos más altos y un mayor efecto biológico en tejidos normales que en tumores. Por lo tanto, la disminución de GSH y la sensibilización resultante al melfalán por agentes de ciclo redox administrados por vía intravenosa serán generalmente mayores en los tejidos normales que en los tumores.

En presencia de oxígeno, la hidroxocobalamina cataliza la autooxidación del ácido ascórbico. In vitro, la combinación de hidroxocobalamina y ácido ascórbico genera peróxido de hidrógeno, reduce los niveles de GSH y es citotóxica. El proceso implica el ciclo redox del cobalto entre los estados de oxidación de Co(III) y Co(II) con el ascorbato que sirve como el reductor y el oxígeno como el oxidante. El ácido ascórbico se oxida al radical libre de ascorbato y, en última instancia, al ácido deshidroascórbico (DHA). La siguiente referencia se relaciona con este asunto: Akatov VS, y otros, Combined vitamins B12b and C induce the glutathione depletion and the death of epidermoid human larynx carcinoma cells HEp-2, *Biosci Rep.*, octubre de 2000, 20(5):411-7; Solovieva ME, y otros, Vitamin B12b increases the cytotoxicity of short-time exposure to ascorbic acid, inducing oxidative burst and iron-dependent DNA damage, *Eur J Pharmacol.* 2 de julio de 2007, 566(1-3):206-14; Nazhat NB, y otros, Destruction of vitamin B12 by reaction with ascorbate: The role of hydrogen peroxide and the oxidation state of cobalt, *J. Inorg. Biochem.*, junio de 1989, 36(2):75-81; Ahmad I, y otros, Effect of ascorbic acid on the degradation of cyanocobalamin and hydroxocobalamin in aqueous solution: a kinetic study, *AAPS PharmSciTech.*, octubre de 2014, 15(5): 1324-33.

Cada uno del ácido ascórbico y la hidroxocobalamina se distribuye en el fluido extracelular y no es absorbido preferentemente por las células tumorales. En consecuencia, un experto en la técnica esperaría que la combinación de ácido ascórbico intravenoso e hidroxocobalamina no agote selectivamente el GSH en células tumorales frente a tejidos normales. Un experto en la técnica esperaría que la combinación sensibilizara igualmente a los tejidos normales y a los tejidos tumorales al melfalán, y que cualquier ganancia en la destrucción de células tumorales se compensaría con una mayor toxicidad a las células normales, lo que limitaría la dosis de melfalán que podría administrarse de forma segura.

En modelos animales, la combinación de DHA e hidroxocobalamina ejerció potentes efectos anticancerígenos, sin embargo, la combinación de ácido ascórbico e hidroxocobalamina fue ineficaz. Los informes iniciales de actividad anticancerígena con hidroxocobalamina y ácido ascórbico se corrigieron en una publicación de seguimiento y se atribuyeron al uso de ácido ascórbico que ya se había descompuesto en DHA antes de la administración. En modelos de ratón de leucemia linfoide P388, la combinación de ácido ascórbico e hidroxocobalamina tenía una actividad anticancerígena que se limitaba en extensión y duración; la supervivencia se prolongaba sólo alrededor de 7 días. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Poydock ME, Effect of combined ascorbic acid and B-12 on survival of mice with implanted Ehrlich carcinoma and L1210 leukemia, *Am J Clin Nutr.*, diciembre de 1991, 54(6 Suppl):1261S-1265S (ver el Apéndice A). El DHA es inestable en sangre y se descompone intravascularmente en segundos en ácido 2,3-dicitogulónico (2,3-DKG). Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Pierson HF, y otros, Depletion of extracellular cysteine with hydroxocobalamin and ascorbate in experimental murine cancer chemotherapy, *Cancer Res.* octubre de 1985, 45(10):4727-31; Poydock ME, Effect of combined ascorbic acid and B-12 on survival of mice with implanted Ehrlich carcinoma and L1210 leukemia, *Am J Clin Nutr.* diciembre de 1991, 54(6 Suppl):1261S-1265S (ver el Apéndice A); Poydock ME, y otros, Mitogenic inhibition and effect on survival of mice bearing L1210 leukemia using a combination of dehydroascorbic acid and hydroxycobalamin, *Am J Clin Oncol.*, junio de 1985, 8(3):266-9; Koshiishi I, y otros, Degradation of dehydroascorbate to 2,3-diketogulonate in blood circulation, *Biochim Biophys Acta.* 16 de septiembre de 1998, 1425(1):209-14.

Se ha propuesto el ácido ascórbico solo como un medio para inducir el estrés oxidativo en los tumores. Se demostró que la administración de ácido ascórbico en dosis altas genera radicales libres de ascorbato y peróxido de hidrógeno en el fluido de microdiálisis obtenido de tumores y tejidos subcutáneos. Sin embargo, los niveles de peróxido de hidrógeno medidos en el fluido de microdiálisis reflejan tanto el peróxido de hidrógeno del fluido extracelular como el peróxido de hidrógeno generado en la tubería de microdiálisis. La producción de peróxido de hidrógeno en los tubos

de microdiálisis podría ser significativa porque el régimen de flujo fue lento, los niveles de ácido ascórbico fueron altos y un factor sérico de 10 000 a 30 000 de peso molecular cataliza la autooxidación del ácido ascórbico. Este factor sérico podría estar presente en la concentración de microdiálisis en niveles significativos ya que el corte de peso molecular de la membrana de diálisis fue de 20 000. Además, los niveles de radicales libres de ascorbato detectados en el microdializado de fluido extracelular subcutáneo fueron significativamente mayores que los del fluido extracelular del tumor. Dado que los radicales libres de ascorbato se someten a una rápida desproporción a DHA y ácido ascórbico, esto sugiere fuertemente que los niveles de DHA generados en el fluido extracelular subcutáneo fueron más altos que los generados en el fluido extracelular del tumor. Los datos indican que el ácido ascórbico se somete a autooxidación en el microdializado a partir del fluido extracelular del tumor y el fluido extracelular del tejido normal. Se ha postulado, pero no demostrado, que el entorno extracelular de los tumores puede contener mayores niveles de metales de transición que pueden catalizar la autooxidación del ácido ascórbico en comparación con los tejidos normales. Incluso si este es el caso, la tasa de autooxidación del ácido ascórbico en los tumores es lenta. Los ratones a los que se les administró una infusión intravenosa de ácido ascórbico hiperpolarizado no demostraron DHA detectable en los tumores. Por el contrario, después de la infusión de DHA hiperpolarizado a ratones, se detectó fácilmente ácido ascórbico hiperpolarizado en tumores. Además, como ya se discutió, la tasa de producción de peróxido de hidrógeno a partir de la autooxidación del ácido ascórbico es mucho menor que la capacidad de los tejidos para desintoxicar el peróxido de hidrógeno. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Chen Q, y otros, Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo, Proc Natl Acad Sci U S A., 22 de mayo de 2007, 104(21):8749-54; Chen Q, y otros, Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice, Proc Natl Acad Sci U S A., 12 de agosto de 2008, 105(32):11105-9; Chen Q, y otros, Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo, Proc Natl Acad Sci U S A., 22 de mayo de 2007, 104(21):8749-54; Keshari KR, y otros, Hyperpolarized ¹³C dehydroascorbate as an endogenous redox sensor for in vivo metabolic imaging, Proc Natl Acad Sci U S A., 15 de noviembre de 2011, 108(46): 18606-11; Du J, y otros, Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer, Biochim Biophys Acta., diciembre de 2012, 1826(2):443-57.

Considere las consecuencias de añadir un catalizador redox tal como la hidroxocobalamina en concentraciones iguales al fluido extracelular de tejidos normales y el fluido extracelular de tumores a una concentración que da como resultado una rápida autooxidación del ácido ascórbico (en comparación con la tasa de autooxidación en tejidos sin el catalizador). El resultado sería esencialmente tasas iguales de autooxidación de ácido ascórbico en el fluido extracelular de tejidos normales y tejidos tumorales, ya que la contribución de los catalizadores endógenos sería menor en comparación con la actividad catalítica de la hidroxocobalamina. En consecuencia, un experto en la técnica esperaría que la administración de un catalizador tal como la hidroxocobalamina, que se absorbe por igual por los tumores y los tejidos normales, no proporcionaría una base para el agotamiento selectivo de GSH en los tumores. Un experto en la técnica esperaría que, en ausencia de la reducción selectiva de GSH en las células tumorales, la toxicidad del melfalán aumentaría tanto en los tejidos normales como en las células tumorales, y que el aumento de la toxicidad a los tejidos normales requeriría una reducción de la dosis al paciente, lo que compensaría cualquier ganancia en la citotoxicidad a las células tumorales por los agentes reductores de GSH. Por ejemplo, la L-butilonina-SR-sulfoximina (BSO) agota el GSH tanto en tejidos normales como en tejidos tumorales, y en los pacientes, el BSO aumenta la toxicidad del melfalán en la médula ósea normal. Otro ejemplo es el misonidazol, que tras la administración sistémica agota el GSH de forma no selectiva tanto en tumores como en tejidos normales. La combinación de misonidazol y mostaza de nitrógeno da como resultado un aumento de la reticulación de ADN y un aumento de la toxicidad tanto para los tejidos normales como para los tejidos tumorales, con los mayores aumentos de toxicidad que se observan en los tejidos normales. La mejora de la toxicidad tanto a los tejidos normales como a los tumores mediante fármacos que dañan el ADN administrados en combinación con fármacos que inhiben de forma no selectiva la reparación del ADN es una ocurrencia general. Por ejemplo, se observa con agentes que dañan al ADN en combinación con O6-bencilguanina e inhibidores de poli (adenosín difosfato [ADP]-ribosa) (PARP) polimerasa. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Bailey HH, y otros, Phase I clinical trial of intravenous L-buthionine sulfoximine and melfalán: an attempt at modulation of glutathione, J Clin Oncol., enero de 1994, 12(1):194-205; Bailey HH, y otros, Phase I study of continuous-infusion L-S, R-buthionine sulfoximine with intravenous melfalán, J Natl Cancer Inst., 3 de diciembre de 1997, 89(23):1789-96; Murray D, y otros, Effect of misonidazole pretreatment on nitrogen mustard-induced DNA cross-linking in mouse tissues in vivo, Br J Cancer., diciembre de 1984, 50(6):801-8; Friedman HS, y otros, Phase I trial of carmustine plus O6-benzylguanine for patients with recurrent or progressive malignant glioma, J Clin Oncol., 15 de octubre de 2000, 18(20):3522-8; Rajan A, y otros, A phase I combination study of olaparib with cisplatin and gemcitabine in adults with solid tumors, Clin Cancer Res., 15 de abril de 2012, 18(8):2344-51.

Como se describe en la presente descripción, se ha descubierto el resultado inesperado de que la administración de ácido ascórbico e hidroxocobalamina dará como resultado la entrega selectiva de peróxido de hidrógeno y DHA a los tumores y el agotamiento selectivo de GSH en las células tumorales. A pesar de que el suministro de ácido ascórbico e hidroxocobalamina será igual en tejidos tumorales y normales, la dosis de DHA a células tumorales será aproximadamente de 3 a 12 veces mayor que en la mayoría de los tejidos normales, y la dosis de peróxido de hidrógeno a células tumorales será hasta 20 veces mayor. Sorprendentemente, el suministro preferencial inesperado de DHA y peróxido de hidrógeno resultará de un aumento de la presión del fluido intersticial, el fluido intersticial y la mala vascularización, que son características de los tumores. Esto es inesperado porque el aumento de la presión del fluido intersticial en los tumores y la mala vascularidad tumoral son barreras que se conocen bien para la captación de

fármacos por los tumores. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Jang SH, y otros, Drug delivery and transport to solid tumors, *Pharm Res.*, septiembre de 2003, 20(9):1337-50; Jain RK, Barriers to drug delivery in solid tumors, *Sci Am.*, julio de 1994, 271(1):58-65; Provenzano PP, y otros, Hyaluronan, fluid pressure, and stromal resistance in pancreas cancer, *Br J Cancer.*, 15 de enero de 2013, 108(1):1-8.

5

Resumen de la invención

La presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas. Cualquier contenido que esté fuera del ámbito de protección conferido por las reivindicaciones se proporciona solo con fines de información. Las referencias a un método de tratamiento en esta descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, (kits de) composiciones farmacéuticas o medicamentos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico).

10

La presente invención se refiere a métodos efectivos para tratar los cánceres metastásicos para lograr altas tasas de respuestas completas (CR) y, especialmente, CR duraderas a largo plazo. La presente invención incluye un método para el tratamiento y el tratamiento efectivo (como se define más abajo) de los cánceres metastásicos, donde el método comprende la administración de un conjunto de fármacos que comprende melfalán, BNCU, hidroxocobalamina, ácido ascórbico y, opcionalmente, infusión de células madre de médula ósea y etanol.

15

En un primer aspecto, la invención se refiere a un método para el tratamiento del cáncer metastásico o cáncer metastásico refractario en un sujeto y comprende administrar una combinación de 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores, y administrar opcionalmente etanol y/o células madre de médula ósea, en donde el melfalán, 1,3-bis(2-cloroetil)-1-

20

nitrosourea, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores, se administran simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas; en donde la dosis de melfalán está en el intervalo de 20 a 200 mg/m². En una modalidad, la 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea se administra en un intervalo de dosis de 50 a 400 mg/m²; el melfalán se administra en una dosis de 20 a 200 mg/m²; la hidroxocobalamina se administra en una dosis de 25 a 20 000 mg/m², y el ácido ascórbico se administra en una dosis de 1 gramo a 150 gramos. En otra modalidad, la 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea se administra en un intervalo de

25

dosis de 75 a 300 mg/m²; el melfalán se administra en una dosis de 50 a 200 mg/m²; la hidroxocobalamina se administra en una dosis de 400 a 800 mg/m², y el ácido ascórbico se administra en una dosis de 5 gramos a 40 gramos. En una modalidad adicional, la 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea se administra a una dosis de 150 mg/m²; el melfalán se administra a una dosis de 70-140 mg/m²; la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 580 mg/m², y el ácido ascórbico se administra a una dosis de 5 gramos a 25 gramos. En una modalidad, la invención comprende

30

además la administración sistémica de etanol a una dosis de 500 mg a 40 gramos. En otra modalidad, la invención comprende además la terapia de trasplante de células madre de médula ósea. En una modalidad adicional, el cáncer metastásico está en un sujeto con una mutación de línea germinal heredada en un gen involucrado en la reparación del ADN y/o la recombinación homóloga y/o la reparación de la reticulación de ADN. En una modalidad, el cáncer metastásico está en un paciente con una mutación de línea germinal heredada en uno o más de los siguientes genes:

35

ATR, BARD1, BLM, BRCA1, BRCA2, BRIP1 (FANCI), BACH1, EME1, ERCC1, ERCC4, FAN1, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCN, FANCO, FANCP, FANCQ, FANCQ, FANCS, FANCT, HELQ, MEN1, MUS81, NBN (NBS1), PALB2, RAD50, RAD51 (FANCR), RAD51C (FANCO), RAD51D, REV1, SLX4 (FANCT), UBE2T (FANCT), USP1, WDR48, XPF, XRCC2, XRCC3, u otros genes involucrados en la reparación de la reticulación de ADN, recombinación homóloga o reparación de ADN. En otra modalidad, el cáncer metastásico está en un sujeto con una mutación de línea germinal heredada en BRCA1 y/o

40

BRCA2. En una modalidad adicional, el cáncer metastásico se selecciona de cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer de mama y cáncer de próstata.

45

En un tercer aspecto, la invención se refiere a un método para tratar el cáncer que comprende la administración de 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

50

En un quinto aspecto, la invención se refiere a un conjunto de composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento efectivo del cáncer metastásico o cáncer metastásico refractario en un sujeto, que comprende una dosis terapéuticamente efectiva de 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

55

En un sexto aspecto, la invención se refiere al uso de una composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer metastásico o cáncer metastásico refractario en un sujeto, que comprende una dosis terapéuticamente efectiva de una combinación de 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, en donde la dosis de melfalán está en el intervalo de 20 a 200 mg/m².

60

En un séptimo aspecto, la invención se refiere a un método para la prevención de la hemólisis y/o formación de metahemoglobina en un sujeto tratado con agentes que generan peróxido de hidrógeno y comprende la administración sistémica de una dosis terapéuticamente efectiva de etanol.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a métodos para el tratamiento y el tratamiento efectivo (como se define más abajo) de cánceres metastásicos, que incluyen cánceres metastásicos refractarios.

- 5 A continuación una descripción de ejemplos de modalidades de la invención.

Definiciones

10 Resistencia a los fármacos adquirida: se refiere a la capacidad de las poblaciones de células cancerosas para escapar de la destrucción o inactivación por un fármaco en niveles clínicamente alcanzables, en donde dicha falta de sensibilidad surge o evoluciona en una población inicialmente sensible a los fármacos.

15 Análogo: se refiere a un compuesto o resto que posee una similitud estructural significativa como para poseer sustancialmente la misma función.

Alogénico: se refiere a tejido o células que se derivan de otro individuo.

20 Pacientes seleccionados adecuadamente: se refiere a pacientes que son buenos candidatos para el tratamiento y que probablemente se beneficiarán. Por ejemplo, un paciente anciano frágil con afecciones médicas subyacentes graves (por ejemplo, enfermedad cardíaca, enfermedad del hígado, enfermedad renal, desnutrición grave) generalmente no sería un buen candidato. Un paciente con una enfermedad metastásica avanzada de este tipo que probablemente no sobreviviría al tratamiento no sería un buen candidato. Un paciente con enfermedad metastásica extensa al cerebro no sería un buen candidato. Los métodos para la selección adecuada de los pacientes se conocen bien por un experto en la técnica.

25 Aproximadamente: se refiere a más o menos 25 % cuando se refiere a las dosis de fármacos y los intervalos de las dosis de fármacos.

30 Área bajo la curva (AUC): se refiere a la integral de la curva de concentración del fármaco en el tiempo para un fármaco in vitro o in vivo; el AUC es una medida de la exposición total al fármaco.

35 Radical libre de ascorbato: se refiere al radical que se forma a partir de la oxidación de un electrón del ácido ascórbico. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Du J, y otros, Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer, Biochim Biophys Acta, diciembre de 2012, 1826(2):443-57.

40 Ácido ascórbico: se refiere al ácido L-ascórbico y las especies moleculares que están en equilibrio con el ácido ascórbico cuando el ácido ascórbico se disuelve en agua o soluciones acuosas. El ácido ascórbico tiene dos grupos hidroxilo ionizables con pKa de 4,2 y pKa de 11,6, respectivamente. A pH fisiológico, el monoanión de ascorbato es la forma predominante, sin embargo, también están presentes pequeñas cantidades del dianión de ascorbato; ambas especies están en equilibrio con el ácido ascórbico. El ácido ascórbico también se refiere a sales farmacológicamente aceptables de ácido L-ascórbico, tales como mono-sodio ascorbato. El ácido ascórbico no se refiere al DHA o al radical libre de ascorbato. Las dosis de ácido ascórbico se basan en el contenido de ácido L-ascórbico, asumiendo que todo el fármaco estaba en forma de ácido L-ascórbico. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Du J, y otros, Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer, Biochim Biophys Acta, diciembre de 2012, 1826(2):443-57.

45 AUC-1: se refiere al AUC del fármaco necesario para dar una reducción de 1 log en la supervivencia de células clonogénicas.

50 Autólogo: se refiere a tejido o células derivadas del mismo individuo.

BCNU: se refiere al fármaco carmustina, también conocido como 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea (CAS No. 154-93-8). El BCNU inhibe la glutatión reductasa, que es fundamental para mantener los niveles de GSH celular en presencia de estrés oxidativo. La glutatión reductasa cataliza la reducción por NADPH de GSSG a GSH. El BCNU también es un agente de reticulación de ADN.

55 Célula madre de médula ósea o célula madre hematopoyética: se refiere a una célula pluripotente que puede reconstituir la médula ósea normal y dar lugar a todos los linajes celulares de médula ósea normales; estas células son típicamente células CD34+, se pueden aislar de aspirados de médula ósea, sangre periférica y sangre de cordón umbilical, y pueden ser autólogas o alogénicas. Las células que pueden dar lugar a las células madre de médula ósea para los propósitos de esta solicitud también se consideran "células madre de médula ósea".

60 Infusión de células madre de médula ósea, terapia de trasplante de células madre de médula ósea e infusión de células madre: se refieren al proceso de administrar por vía intravenosa células madre de médula ósea para acelerar la recuperación de la función de la médula ósea.

- Cáncer asociado a BRCA y cáncer relacionado con BRCA: se refieren a cáncer que surge en el contexto de una mutación BRCA heredada.
- 5 Butionina sulfoximina (BSO): se refiere a un inhibidor selectivo de la gamma-glutamilcisteína sintasa, la enzima limitante de la velocidad en la síntesis de GSH.
- Cáncer: se refiere a una enfermedad definida por un comportamiento maligno. Sólo las células malignas (es decir, las células que participan en el comportamiento maligno) pueden sostener la enfermedad clínica del cáncer.
- 10 Supervivencia clonogénica: se refiere a la capacidad de una célula para multiplicarse y formar una colonia de células.
- Fracción de supervivencia clonogénica: se refiere a una medida de supervivencia clonogénica, calculada como la fracción de células que son capaces de dar lugar a una colonia de células en un ensayo de formación de colonias, también igual a la probabilidad de supervivencia clonogénica.
- 15 Terapia combinada: se refiere a la administración de compuestos terapéuticos (por ejemplo, agentes o fármacos) de una manera en donde cada compuesto terapéutico se administra en un momento diferente, así como a la administración de estos agentes terapéuticos, o al menos dos de los agentes terapéuticos, simultáneamente o de una manera sustancialmente simultánea. La administración simultánea se puede lograr, por ejemplo, administrando al sujeto una única cápsula que tiene una relación fija de cada agente terapéutico o administrando múltiples cápsulas únicas para cada uno de los agentes terapéuticos, o la administración sustancialmente simultánea de cada agente terapéutico se puede realizar por cualquier vía apropiada, incluidas las vías orales, las vías intravenosas, las vías intramusculares o la absorción directa a través de los tejidos de la membrana mucosa. Los agentes terapéuticos se pueden administrar por la misma vía o por diferentes vías. Por ejemplo, un primer agente terapéutico de la combinación seleccionada se puede administrar por inyección intravenosa mientras que los otros agentes terapéuticos de la combinación se pueden administrar por vía oral. Alternativamente, por ejemplo, todos los agentes terapéuticos se pueden administrar por vía oral o todos los agentes terapéuticos se pueden administrar por inyección intravenosa. Los agentes terapéuticos también pueden administrarse de forma alterna. Las terapias de combinación que se presentan en la presente invención pueden dar como resultado un efecto sinérgico en el tratamiento de una enfermedad o cáncer.
- 20 30 La terapia de combinación también se refiere a la administración de los agentes terapéuticos como se describió anteriormente en combinación adicional con otros ingredientes biológicamente activos y terapias no farmacológicas (por ejemplo, cirugía o tratamiento de radiación). Donde la terapia combinada comprende un tratamiento que no es de fármaco, el tratamiento que no es de fármaco se puede realizar en cualquier momento adecuado siempre que se logre un efecto beneficioso de la coacción de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento que no es de fármaco. Por ejemplo, en los casos apropiados, el efecto beneficioso aún se logra cuando el tratamiento que no es de fármaco se elimina temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, quizás por días o incluso semanas.
- 35 40 Respuesta completa (CR): se refiere a la ausencia de todo cáncer detectable, que se determina típicamente mediante una exploración por tomografía computarizada, resonancia magnética u otra tecnología de imagen o detección; La siguiente referencia se relaciona con este asunto: Eisenhauer EA, y otros, New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1), Eur J Cancer, enero de 2009, 45(2):228-47. Se debe señalar que las pautas RECIST equiparan la presencia de masa tumoral con la presencia de cáncer y la disminución de la masa tumoral con la eficacia antitumoral. Si bien la masa tumoral es una métrica precisa para los fármacos y terapias contra el cáncer citotóxicos que destruyen las células cancerosas, no es una métrica precisa para los fármacos antineoplásicos que eliminan permanentemente el potencial de proliferación celular sin necesariamente destruir las células. Por ejemplo, la bizelesina actúa de esta manera. Por definición, las poblaciones de células (es decir, masas tumorales) que no pueden proliferar, no pueden exhibir un comportamiento maligno y no son cancerosas, aunque dichas poblaciones de células permanezcan viables.
- 45 50 Terapias actuales establecidas: se refiere a regímenes existentes usados para tratar a los sujetos.
- 55 El ácido deshidroascórbico (DHA) se refiere a la forma oxidada del ácido ascórbico; (5R)-5-[(1S)-1,2-dihidroxietil]oxolano-2,3,4-triona.
- Desintoxicación: se refiere al proceso de disminuir o abolir la toxicidad celular de un fármaco por medio de procesos metabólicos celulares o espontáneos. Por ejemplo, la reacción nucleofílica enzimática o espontánea del GSH con un agente alquilante da como resultado la desintoxicación del agente alquilante.
- 60 Ácido 2,3-dicetogulónico: se refiere al ácido (4R,5S)-4,5,6-trihidroxi-2,3-dioxohexanoico, que es un producto de descomposición del DHA, (CAS No. 3409-57-2).
- Distribuir en el fluido extracelular: significa que el volumen de distribución del fármaco es esencialmente el espacio del fluido extracelular en el cuerpo.

- Agente de reticulación de ADN: se refiere a un fármaco o agente químico que une las hebras de ADN de la doble hélice de ADN con suficiente afinidad como para impedir la separación de las hebras y de esta manera afecta la síntesis de ADN. En general, pero no siempre, dicha afinidad de unión resulta de los enlaces covalentes que se forman entre el agente de reticulación y las hebras de ADN. Se proporcionan ejemplos de agentes de reticulación de ADN en lo siguiente: Rajski SR, y otros, DNA Cross-Linking Agents as Antitumor Drugs., Chem Rev., 17 de diciembre de 1998, 98(8):2723-2796.
- Factor de modificación de la dosis: se refiere a la siguiente fórmula: [concentración del fármaco que da una reducción de 1 log en la supervivencia de células clonogénicas sin el segundo fármaco (s) "X"] / [concentración del fármaco que da una reducción de 1 log con el (los) fármaco (s) "X"]. Por ejemplo, el fármaco podría ser melfalán y el fármaco "X" podría ser BSO.
- Respuesta completa duradera (también CR a largo plazo): se refiere a una CR duradera; o una CR que dura al menos 1 año sin quimioterapia; o una CR que dura un período de tiempo mayor que 0,5 X, en donde X es la mediana de la supervivencia general de pacientes comparables con el mismo tipo y etapa de cáncer que se tratan con las terapias actuales establecidas y no logran tener una CR. Por ejemplo, si la mediana de supervivencia general para un tipo y etapa de cáncer particular fuera de 18 meses con las terapias actuales establecidas en pacientes que no lograron tener una CR, entonces para que una CR se considere una CR duradera en este contexto, tendría que exceder los 9 meses de duración.
- Tratamiento efectivo del cáncer metastásico o tratamiento efectivo del cáncer: se refiere a un tratamiento o método que en pacientes seleccionados adecuadamente da altas tasas o altas probabilidades de uno o más de los siguientes: CR, CR duraderas a largo plazo; supervivencia libre de progresión a largo plazo, supervivencia general a largo plazo, supervivencia específica de la enfermedad a largo plazo, supervivencia relativa a largo plazo, supervivencia libre de la enfermedad a largo plazo y curas aparentes; y que generalmente preserva o mejora la calidad de vida del paciente. Una concesión de la designación de terapia innovadora por parte de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) proporcionaría evidencia de apoyo de la efectividad; sin embargo, un tratamiento que sea estadísticamente superior al placebo, prolongue la supervivencia general o la supervivencia libre de progresión en varios meses y reciba la aprobación de la FDA no se consideraría un tratamiento efectivo según nuestra definición. De manera similar, un tratamiento que proporcione altas tasas (por ejemplo, 80 %) de CR a corto plazo (por ejemplo, varios meses de duración) no se consideraría un tratamiento efectivo.
- Agente de reticulación de ADN electrofílico: se refiere a un agente de reticulación de ADN que reacciona con sitios nucleofílicos en el ADN; por ejemplo, el agente alquilante bifuncional melfalán es un agente de reticulación de ADN electrofílico que reacciona con dos centros nucleofílicos en el ADN: N-7 de guanina y N-3 de adenina.
- Enzima: se refiere a una proteína que cataliza una reacción química.
- Fluido extracelular: se refiere al fluido que reside fuera de las células en el cuerpo; el espacio correspondiente se denomina espacio extracelular. Para los propósitos de esta solicitud, el fluido extracelular puede verse como el plasma y el fluido intersticial.
- Vías Fanconi/BRCA de reparación del ADN: se refiere a la maquinaria celular, proteínas y procesos involucrados en la recombinación homóloga y la reparación de la reticulación entre hebras del ADN. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Kim H, y otros, Regulation of DNA cross-link repair by the Fanconi anemia/BRCA pathway, Genes Dev., 1 de julio de 2012, 26(13): 1393-408; Moldovan GL, How the Fanconi anemia pathway guards the genome, Annu Rev Genet., 2009, 43:223-49.
- Glutatión (GSH): se refiere a un tripéptido con un enlace peptídico gamma entre el grupo amino de la cisteína y el grupo carboxilo de la cadena lateral de glutamato, donde la cisteína se une por enlace peptídico a la glicina. El GSH es el principal compuesto tiol intracelular: es un antioxidante importante y un agente importante en la desintoxicación intracelular de los electrófilos reactivos, tales como los agentes alquilantes.
- Glutatión peroxidasa: se refiere a una enzima que cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno en agua y GSH en GSSG.
- Glutatión reductasa (GR): se refiere a una enzima que cataliza la reducción de GSSG en GSH; NADPH se usa como el agente reductor.
- Glutatión disulfuro (GSSG): se refiere al compuesto formado al enlazar dos moléculas de GSH mediante un enlace disulfuro; también, se refiere como "GSH oxidado".
- Glutationilación: se refiere a la formación de disulfuros mixtos entre glutatión y residuos de cisteínilo de pKa bajo de proteínas. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Dalle-Donne I, y otros, S-glutathionylation in protein redox regulation, Free Radic Biol Med., 15 de septiembre de 2007, 43(6):883-98.

- Alta tasa (o probabilidad) de respuestas completas: se refiere a una tasa (o probabilidad) de CR que es al menos aproximadamente dos veces la tasa (o probabilidad) obtenida con los tratamientos actuales establecidos para el tipo y la etapa particulares de cáncer, en donde el término "el tipo particular" de cáncer puede referirse no solo al tipo histológico (es decir, cáncer de ovario seroso), sino también a otras propiedades cualificantes clínicamente relevantes
- 5 tales como la resistencia al platino; o, alternativamente, una tasa que excede aproximadamente el 50 %. El término "alta probabilidad de respuesta completa" se prefiere cuando se trata de un solo paciente, pero de cualquier otra manera los términos "alta tasa" y "alta probabilidad" son esencialmente intercambiables.
- Recombinación homóloga: se refiere a un proceso de reparación del ADN que da como resultado la eliminación y reparación de la reticulación entre hebras de ADN y la reparación de roturas de doble hebra de ADN. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Kim H, y otros, Regulation of DNA cross-link repair by the Fanconi anemia/BRCA pathway, *Genes Dev.*, 1 de julio de 2012, 26(13): 1393-408; Moldovan GL, How the Fanconi anemia pathway guards the genome, *Annu Rev Genet.*, 2009, 43:223-49.
- 10 15 Incluye (así como también incluir y otras formas de la palabra): se interpretará como incluye (o incluye, etc.) sin limitación o "incluye, pero no se limita a".
- Inhibidor de la glutatión reductasa: se refiere a un fármaco o agente que inhibe la actividad de GR o que espontáneamente o después de la activación metabólica genera una especie química que inhibe la actividad de GR.
- 20 25 Fluido intersticial o agua intersticial: se refiere al fluido extravascular que se ubica fuera de las células.
- Espacio intersticial: se refiere al espacio ocupado por el fluido intersticial.
- Agua o fluido intracelular: se refiere al agua o fluido que se localiza dentro de las células.
- 30 35 Potencial de reducción intracelular de GSSG/GSH: se refiere a una métrica que proporciona una medida de la actividad reductora de GSH en las condiciones intracelulares; se da por ΔE en la ecuación de Nernst: $\Delta E = Eph - RT/2F \ln [GSH]^{1/2}/[GSSG]$, en donde Eph es E0 (el potencial de reducción en condiciones de estado estándar) ajustado al pH intracelular; R es la constante de gas, F es la constante de Faraday, T es la temperatura, [GSH] es la concentración de glutatión y [GSSG] es la concentración de disulfuro de glutatión en la localización intracelular. A pH 7,0, Eph = ~ -240 mV y a 37 °C, $\Delta E = -240 - 30,8 \log [GSH]^{1/2}/[GSSG]$ en mV. La siguiente referencia que se relaciona con este asunto: Schafer FQ, y otros, Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple, *Free Radic Biol Med.*, 1 de junio de 2001, 30(11):1191-212.
- Presión del fluido intersticial: se refiere a la presión ejercida por el fluido intersticial. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Guyton AC, A concept of negative interstitial pressure based on pressures in implanted perforated capsules, *Circ Res.*, abril de 1963, 12:399-414.
- 40 Resistencia intrínseca a los fármacos: se refiere a la capacidad de las poblaciones de células cancerosas para escapar de la destrucción o inactivación por un fármaco en niveles clínicamente alcanzables, en donde dicha falta de sensibilidad se manifiesta antes de la exposición al fármaco.
- 45 Inhibidor irreversible: se refiere a un agente que inactiva permanentemente una enzima; generalmente, esto ocurre por modificación covalente de la enzima en el(s) sitio(s) que son esenciales para la actividad enzimática.
- Cáncer líquido: se refiere a un cáncer derivado de la médula ósea o los tejidos linfáticos; los ejemplos incluyen leucemia, linfoma y mieloma.
- 50 55 Reducción de registro en la supervivencia celular: es el logaritmo negativo de la fracción de células cancerosas clonogénicas que sobreviven al tratamiento; es decir, cada reducción de registro reduce el número de células cancerosas clonogénicas que sobreviven en nueve décimas. Por ejemplo, una reducción de 1 log significa que el tratamiento da como resultado una disminución del 90 % en la supervivencia de células clonogénicas, una reducción de 2 log corresponde a una disminución del 99 % en la supervivencia de células clonogénicas, una reducción de 3 log corresponde a una disminución del 99,9 % en la supervivencia de células clonogénicas, etc.
- Comportamiento maligno: se refiere a la proliferación e invasividad en un contexto o entorno anormal en el cuerpo, en donde la invasividad es la expansión de las células en un nuevo espacio, que puede ser local o distante (es decir, metastásico), con la remodelación o destrucción de la arquitectura tisular existente y la creación de la infraestructura para apoyar las necesidades metabólicas de las células; los mecanismos de invasividad pueden llevarse a cabo por células malignas y/o células no malignas en el microambiente. El comportamiento maligno es la propiedad definitoria del cáncer.
- 60 65 Célula maligna: se refiere a una célula cancerosa que expresa o puede expresar un comportamiento maligno; no todas las células tumorales en un paciente con cáncer son malignas; muchas células tumorales en pacientes con cáncer son de extremo, no pueden proliferar, no pueden participar en un comportamiento maligno y no son células malignas.

El melfalán (CAS No. 148-82-3): es un agente alquilante bifuncional que reticula el ADN y de esta manera inhibe la supervivencia clonogénica de las células cancerosas.

Cáncer metastásico: se refiere al cáncer que se ha propagado más allá del sitio de origen del tejido local a ubicaciones distantes en el cuerpo; es decir, cáncer no localizado. El cáncer micro metastásico es un cáncer metastásico que no es detectable con la tecnología de imágenes convencional debido al pequeño tamaño de las lesiones metastásicas.

mg/m² y g/m²: se refieren a la dosis por metro cuadrado de área superficial corporal. Los métodos para calcular el área superficial del cuerpo se conocen bien por un experto en la técnica. Las dosis expresadas en mg/m² o gramos/m² se pueden convertir en dosis aproximadamente equivalentes o similares en base al peso corporal u otras métricas bien conocidas por un experto en la técnica; las modalidades de la presente invención en las que las dosis se expresan en mg/kg u otras métricas tales se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

NADPH: se refiere a la forma reducida de fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido (NADP).

Análogo de mostaza de nitrógeno: se refiere a un compuesto que contiene dos o más grupos cloroetilamina o un análogo de los mismos; un compuesto que puede transformarse in vivo o in vitro en uno con grupos cloroetilamina; o un compuesto que puede formar grupos aziridinilo. La cloroetilamina se somete a reacciones nucleofílicas intramoleculares con eliminación de Cl- y forma grupos aziridinilo.

Configuración neoadyuvante: se refiere a la administración de un fármaco o terapia quimioterápica antes de la resección quirúrgica del tumor primario.

Unión de extremos no homólogos (NHEJ): se refiere a un proceso para la reparación de roturas de ADN bícatenario que da como resultado una reparación propensa al error. La siguiente referencia que se relaciona con este asunto: Mladenov E, y otros, Induction and repair of DNA double strand breaks: the increasing spectrum of non-homologous end joining pathways, *Mutat Res.*, 3 de junio de 2011, 711(1-2):61-72.

Cáncer metastásico no refractario: se refiere al cáncer metastásico de un tipo que puede tratarse de manera efectiva con las terapias establecidas actuales; los ejemplos incluyen la mayoría, pero no todos, los cánceres testiculares, la leucemia linfocítica aguda infantil, el linfoma de Hodgkin, el cáncer de tiroides folicular y otros cánceres bien conocidos por un experto en la técnica.

Reparación de excisión de nucleótidos (NER): se refiere a un proceso de reparación del ADN que elimina nucleótidos con modificaciones voluminosas y repara el daño. La siguiente referencia que se relaciona con este asunto: Kamileri I, y otros, Nucleotide excision repair: new tricks with old bricks, *Trends Genet.*, noviembre 2012, 28(11):566-73.

Estrés oxidativo: se refiere a la condición que existe cuando los niveles de especies reactivas de oxígeno superan la capacidad de las células para mantener esas especies químicas reactivas dentro de niveles normales, fisiológicos o aceptables; el estrés oxidativo se asocia generalmente con un aumento del potencial de reducción intracelular de GSSG/GSH y el daño oxidativo a las biomoléculas. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Karihtala P, y otros, Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies, *APMIS.*, febrero 2007, 115(2):81-103. Algunos métodos para medir el estrés oxidativo se revisan en: Halliwell B, y otros, Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol.*, mayo de 2004, 142(2):231-55.

Efecto farmacológico: se refiere a una acción impartida por un fármaco sobre un sujeto o sobre células en el sujeto; por ejemplo, una disminución en el GSH celular o la citotoxicidad son efectos farmacológicos.

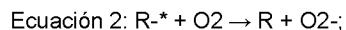
Potencial para la proliferación celular: se refiere a la capacidad de las células para proliferar; o supervivencia clonogénica medida por la capacidad de formar colonias de células. El potencial para la proliferación celular difiere de la proliferación celular: todos los células malignas por definición tienen el potencial para la proliferación celular todo el tiempo, pero la mayoría de las células malignas no están comprometidas activamente en la proliferación la mayor parte del tiempo, ya que la proliferación celular es episódica.

Probabilidad de supervivencia clonogénica: se refiere a la fracción de supervivencia clonogénica.

El profármaco se refiere: a un derivado de un fármaco que puede transformarse in vivo o in vitro ya sea espontáneamente o como resultado del metabolismo o la actividad enzimática en el fármaco original.

Especies reactivas de oxígeno (ROS): se refieren a especies relacionadas con el oxígeno reactivas tales como superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), hidroxirradical (OH[•]), peroxirradicales (ROO[•]), óxido nítrico (NO[•]) y anión peroxinitrito (ONOO⁻). La siguiente referencia se refiere a este asunto: Valko M, y otros, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chem Biol Interact.*, 10 de marzo de 2006, 160(1): 1-40.

Ciclado redox: se refiere a una serie de reacciones químicas en las que un compuesto se reduce y el producto se oxida luego por reacción con oxígeno molecular; el ciclo catalítico puede repetirse muchas veces y consumir grandes cantidades del agente reductor y grandes cantidades de oxígeno. Por ejemplo, los quinones se pueden reducir por una variedad de enzimas celulares por transferencia de un electrón de NADH o NADPH para dar radicales 5 semiquinona, que pueden reaccionar con oxígeno para regenerar el quinona y dar superóxido. El ciclo redox causa estrés oxidativo en las células al generar grandes cantidades de superóxido y otras especies reactivas de oxígeno. El ciclo redox se puede representar como ciclos repetitivos de las ecuaciones 1 y 2: Ecuación 1: $E + R \rightarrow R^{\cdot+} + E^+$



10 donde E es un donante de electrones, E⁺ es la forma oxidada de E y R^{·+} es un radical libre.

Agente de ciclo redox (o fármaco): se refiere a un compuesto que participa en el ciclo redox; el término puede referirse 15 a la forma reducida y/o oxidada de la especie química del ciclo que sufre repetidamente cambios en el estado de oxidación/reducción; también se usa para referirse a compuestos que pueden generar por procesos espontáneos o metabólicos un agente de ciclo redox.

Cáncer metastásico refractario: se refiere al cáncer metastásico que no ha respondido adecuadamente a la terapia; o 20 cáncer metastásico de un tipo que se conoce que es generalmente refractario a las terapias existentes y que no puede tratarse de manera efectiva con las terapias establecidas actuales. Por ejemplo, el cáncer testicular metastásico es altamente curable y generalmente no es un cáncer metastásico refractario; por el contrario, el cáncer pancreático, el melanoma y los cánceres ováricos resistentes al platino son cánceres metastásicos refractarios. No es necesario que 25 un paciente haya fracasado en el tratamiento para considerarlo como que tiene cáncer metastásico refractario. Se considera que un cáncer es refractario a un fármaco particular si se sabe que el tipo de cáncer no responde bien al fármaco particular. Por ejemplo, el cáncer pancreático es refractario al BCNU, al melfalán y al ácido ascórbico en dosis altas. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Kovach JS, y otros, Proceedings: A controlled study of combined 1,3-bis-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea and 5-fluorouracil therapy for advanced gastric and pancreatic cancer, Cancer., febrero de 1974, 33(2):563-7; Smith DB, y otros, Phase II evaluation of melfalán in adenocarcinoma 30 of the pancreas, Cancer Treat Rep., julio-agosto de 1985, 69(7-8):917-8; Monti DA, y otros, Phase I evaluation of intravenous ascorbic acid in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer, PLoS One, 2012, 7(1).

Sensibilizar las células cancerosas a un agente de reticulación de ADN o un agente dañino del ADN: significa aumentar 35 la sensibilidad de las células cancerosas al agente, lo que da como resultado que dicho agente cause una inhibición mucho mayor de la supervivencia clonogénica del cáncer con una disminución en el AUC o la dosis del agente necesaria para dar una reducción de 1 log en la supervivencia clonogénica de las células cancerosas por un factor de al menos 3; el grado de sensibilización se mide mediante el factor de modificación de la dosis (DMF).

Conjunto de fármacos (por ejemplo, agentes o composiciones) para su uso en un régimen para tratar (una afección 40 especificada): se refiere a uno o más fármacos; si el conjunto comprende fármaco #1, fármaco #2, fármaco #3 y fármaco #4, entonces el término "un conjunto de fármacos para su uso en un régimen para tratar (una enfermedad especificada) significa: fármaco #1 para su uso en un régimen para tratar (una enfermedad especificada), fármaco #2 para su uso en un régimen para tratar (una enfermedad especificada), fármaco #3 para su uso en un régimen para tratar (una enfermedad especificada), y fármaco #4 para su uso en un régimen para tratar (una enfermedad especificada), en donde el régimen implica el uso combinado de fármaco #1, fármaco #2, fármaco #3 y fármaco #4. El conjunto de fármacos también se refiere a un kit que comprende dichos fármacos.

Cánceres sólidos o tumores sólidos: se refiere a un cáncer derivado de un tejido sólido; los ejemplos incluyen cáncer 50 pancreático, cáncer de colon, cáncer de pulmón y cáncer de ovario.

Sujeto: se refiere a un mamífero que necesita tratamiento o prevención, por ejemplo, seres humanos, animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos y similares), animales de granja (por ejemplo, vacas, cerdos, caballos, ovejas, cabras y similares) y animales de laboratorio (por ejemplo, ratas, ratones, cobayas y similares). Típicamente, el sujeto es un ser humano que necesita el tratamiento especificado.

Suministro selectivo de fármacos a un tumor: se refiere a la administración sistémica de uno o más agentes a un sujeto 55 y la consecución de niveles de fármaco en los tumores y/o el fluido intracelular de las células tumorales que son mayores que los niveles en el tejido normal, en donde la magnitud del suministro aumentado del fármaco a los tumores es suficiente para provocar preferentemente un efecto farmacológico deseado de dicho fármaco en los tumores.

(Efecto) selectivo en los tumores (o células tumorales): se refiere a lograr una magnitud de un efecto en los tumores (o células tumorales) que es mayor que la magnitud en el tejido normal, en donde la magnitud del efecto aumentado en los tumores (o células tumorales) es suficiente para provocar preferentemente un efecto farmacológico deseado en los tumores (o células tumorales).

- Sinergia o efecto sinérgico: se refiere a un efecto detectable que es mayor (es decir, de manera estadísticamente significativa con relación a una condición de control apropiada) en magnitud que la suma de los efectos que pueden detectarse cuando los compuestos se usan solos: es decir, el efecto de la combinación es mayor que el efecto aditivo esperado de cada componente. Un efecto sinérgico puede ser un efecto que no puede lograrse mediante la administración de cualquiera de los compuestos u otros agentes terapéuticos como agentes únicos. Un efecto sinérgico puede incluir un efecto de tratar el cáncer al reducir el tamaño del tumor, inhibir el crecimiento del tumor o aumentar la supervivencia del sujeto. Un efecto sinérgico también puede incluir la reducción de la viabilidad de las células cancerosas, la inducción de la muerte de las células cancerosas o la inhibición o el retraso del crecimiento de las células cancerosas.
- Administración sistémica: se refiere a la administración de un fármaco que da como resultado la distribución del fármaco en el cuerpo por medio de la circulación sanguínea; incluye las vías intravenosa (IV), intraarterial, intraperitoneal y oral de administración del fármaco. Una ruta preferida es IV.
- Dosis terapéuticamente efectiva: se refiere a una dosis que produce el efecto de tratamiento beneficioso.
- Tiolato: la base conjugada cargada negativamente de un tiol; un ion tiol desprotonado. En las células, el contenido de tiol de proteína se determina en gran medida por el contenido de grupos tiol de cisteína que tienen un pKa de aproximadamente 7 o menos.
- Tratamiento: se refiere a una terapia que proporciona un efecto beneficioso a un paciente con respecto a una enfermedad o afección.
- USP: se refiere a los estándares farmacéuticos de la Convención Farmacopea de los Estados Unidos (USP).
- El hidroxocobalamina como un catalizador de ciclo redox
- El átomo de Co(III) de la hidroxocobalamina cicla entre los estados de Co(III) y Co(II) en presencia de un agente reductor y oxígeno. Se conoce que un gran número de análogos de hidroxocobalamina en los que el átomo de cobalto u otro átomo de metal de transición puede someterse a un ciclo redox, a un experto en la técnica. Los ejemplos de análogos, derivados, prodrogas y sales farmacológicamente aceptables de hidroxocobalamina incluyen acetato de hidroxocobalamina (CAS # 22465-48-1), clorhidrato de hidroxocobalamina, vitamina B 12r, diaquacob(III)inamida (CAS # 15259-55-9); metilaquacobinamida (CAS # 15653-35-7), adenosilaquacob(III)inamida (CAS # 89302-86-3), y cianoacucob(III)inamida (CAS # 13963-62-7). Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Solovieva ME, y otros, La vitamina B 12b potencia la citotoxicidad del ditiotreitol, Free Radic Biol Med., 15 de mayo de 2008, 44(10): 1846-56; Hackman, RA, Electron transfer reactions of macrocyclic compounds of cobalt, 1978, Thesis Submitted to Iowa State University; Jacobsen, DW, y otros, Catalysis of thiol oxidation by cobalamins and cobinamides: reaction products and kinetics, Biochemistry, 1984, 23(9):2017-25.
- Agentes reductores
- Un agente reductor que puede reducir la hidroxocobalamina es el ácido D-ascórbico (CAS No. 89-65-6), o una mezcla racémica de ácido D y L ascórbico; o un tiol como cisteína, N-acetilcisteína, glutatión, sodio 2-sulfaniletanosulfonato (Mesna), o ácido 6,8-dimetacoctanoico (ácido dihidrolipoico), o sales o prodrogas farmacológicamente aceptables de los mismos. Una amplia gama de otros compuestos puede someterse a la autooxidación en presencia de hidroxocobalamina con la producción de peróxido de hidrógeno. Un experto en la técnica reconocerá otros compuestos que se comportarían de manera similar. Los métodos para la administración sistémica de tioles se conocen bien por un experto en la técnica.
- Generación de dha y peróxido de hidrógeno
- El hidroxocobalamina y el ácido ascórbico pueden reaccionar para generar peróxido de hidrógeno, radical libre de ascorbato y/o ácido deshidroascórbico (DHA) y ácido 2,3-dicetogulónico (2,3-DKG). Los radicales libres del ascorbato sufren una desmutación rápida a ácido ascórbico y DHA. El peróxido de hidrógeno puede generarse directa o indirectamente, por ejemplo, por la desmutación de superóxido. El peróxido de hidrógeno, el DHA y el 2,3-DKG pueden mediar efectos farmacológicos selectivos útiles en células cancerosas que incluyen: agotamiento de GSH, aumento en el potencial de reducción de GSSG/GSH intracelular, inhibición de la producción de ATP en células tumorales, inhibición de la glucólisis, la sensibilización de las células tumorales a agentes que dañan al ADN, la sensibilización de las células tumorales a agentes de reticulación de ADN, la inhibición de la mitosis y la citotoxicidad.
- Reacción de hidroxocobalamina y ácido ascórbico
- La hidroxocobalamina actúa como un catalizador para la oxidación del ácido ascórbico. El hidroxocobalamina se somete a un ciclo redox en presencia de ácido ascórbico y oxígeno. En este proceso cíclico, la hidroxocobalamina se reduce por ácido ascórbico, y la forma reducida de hidroxocobalamina se oxida luego por transferencia de electrones al oxígeno. El resultado neto es que la hidroxocobalamina sirve como un catalizador para la oxidación del ácido

ascórbico, y se producen peróxido de hidrógeno y DHA. In vitro, la combinación de hidroxocobalamina y ácido ascórbico genera peróxido de hidrógeno, reduce los niveles de GSH y es citotóxica. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Akatov VS, y otros, Combined vitamins B12b and C induce the glutathione depletion and the death of epidermoid human larynx carcinoma cells HEp-2, Biosci Rep., octubre de 2000, 20(5):411-7; Solovieva ME, y otros, Vitamin B 12b increases the cytotoxicity of short-time exposure to ascorbic acid, inducing oxidative burst and iron-dependent DNA damage, Eur J Pharmacol., 2 de julio de 2007, 566(1-3):206-14; Nazhat NB, y otros, Destruction of vitamin B12 by reaction with ascorbate: The role of hydrogen peroxide and the oxidation state of cobalt, J. Inorg. Biochem., junio de 1989, 36(2):75-81; Ahmad I, y otros, Effect of ascorbic acid on the degradation of cyanocobalamin and hydroxocobalamin in aqueous solution: a kinetic study, AAPS PharmSciTech., octubre de 2014, 15(5):1324-33.

Administración de hidroxocobalamina

Los métodos para la administración intravenosa de hidroxocobalamina se conocen bien por un experto en la técnica. El hidroxocobalamina y el ácido ascórbico se pueden administrar simultáneamente o esencialmente al mismo tiempo. Alternativamente, la hidroxocobalamina se puede administrar horas antes del ácido ascórbico porque la hidroxocobalamina tiene una vida media en plasma de aproximadamente 26 a 31 horas. La hidroxocobalamina se puede administrar durante aproximadamente 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, y 360 minutos, tal como durante aproximadamente 10-15 minutos inmediatamente antes de la administración de ácido ascórbico, que se puede administrar durante un período de tiempo de aproximadamente 30-60 minutos. La hidroxocobalamina se usa actualmente por vía intravenosa para el tratamiento de la intoxicación por cianuro. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Información de prescripción para Cyanokit.

Administración de ácido ascórbico

Los métodos para la administración intravenosa de ácido ascórbico se conocen bien por un experto en la técnica. El ácido ascórbico se puede administrar por vía intravenosa durante aproximadamente 5-360 minutos, tal como durante aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, y 360 minutos. El ácido ascórbico intravenoso se ha usado en múltiples ensayos clínicos. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Monti DA, y otros, Phase I evaluation of intravenous ascorbic acid in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer, PLoS One., 2012, 7(1); Wilson MK, y otros, Review of high-dose intravenous vitamin C as an anticancer agent, Asia Pac J Clin Oncol., marzo de 2014, 10(1):22-37; Stephenson CM, y otros, Phase I clinical trial to evaluate the safety, tolerability, and pharmacokinetics of high-dose intravenous ascorbic acid in patients with advanced cancer, Cancer Chemother Pharmacol., julio de 2013, 72(1):139-46; Hoffer LJ, y otros, Phase I clinical trial of i.v. ascorbic acid in advanced malignancy, Ann Oncol., noviembre de 2008, 19(11):1969-74; Welsh JL, y otros, Pharmacological ascorbate with gemcitabine for the control of metastatic and node-positive pancreatic cancer (PACMAN): results from a phase I clinical trial, Cancer Chemother Pharmacol., marzo de 2013, 71(3):765-75.

Efectos farmacológicos

Tanto la hidroxocobalamina como el ácido ascórbico se distribuyen rápidamente en el compartimiento de fluido extracelular después de la administración sistémica. En presencia de oxígeno, la hidroxocobalamina y el ácido ascórbico reaccionan para generar peróxido de hidrógeno y DHA. El peróxido de hidrógeno y el DHA se eliminan rápidamente del compartimiento intravascular y el fluido intersticial se libera rápidamente y entra en el fluido intracelular. Los efectos farmacológicos del DHA y el peróxido de hidrógeno incluyen la inducción selectiva del estrés oxidativo en los tumores, la disminución selectiva de glutatión en los tumores, el aumento selectivo en el potencial de reducción intracelular GSSG/GSH en los tumores, la inhibición selectiva de la producción de ATP en células tumorales, la inhibición selectiva de la glucólisis en células tumorales, la sensibilización selectiva de las células tumorales a los agentes que dañan al ADN, la sensibilización selectiva de las células tumorales a los agentes de reticulación de ADN y la citotoxicidad selectiva a las células tumorales. Estos efectos pueden aumentarse mediante la inhibición de GR, una enzima que reduce GSSG a GSH.

Etanol

El etanol se puede administrar por vía oral o intravenosa para prevenir la inactivación de la catalasa por peróxido de hidrógeno generado a partir de la reacción de la hidroxocobalamina y el ácido ascórbico. Si la actividad de la catalasa de glóbulos rojos se ve comprometida, entonces el peróxido de hidrógeno puede causar hemólisis y metahemoglobinemia. Los métodos para la administración intravenosa de etanol se conocen bien por un experto en la técnica. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Información de prescripción de la FDA para la inyección de dextrosa al 5 % con alcohol al 5 %. El etanol también se puede usar como cosolvente para uno o más de los fármacos.

Melfalán

Los métodos para la administración intravenosa de melfalán se conocen bien por un experto en la técnica. El melfalán se puede administrar durante un período de aproximadamente 5 a 60 minutos.

Infusiones de células madre de médula ósea

Las células madre de médula ósea se pueden infundir para revertir la toxicidad de la médula ósea de un fármaco que daña el ADN. Las infusiones de células madre se administran generalmente si la dosis de melfalán excede

- 5 aproximadamente 50 mg/m² o la dosis de BCNU excede aproximadamente 200 mg/m² o si el paciente tiene, o se espera que tenga, una supresión de la médula ósea prolongada después del tratamiento con el fármaco. Las células madre se recogen antes de la administración de los fármacos de quimioterapia (es decir, los fármacos dañinos al ADN) y se purifican y almacenan. Las células madre de médula ósea se infunden preferentemente 1-2 días después de los fármacos de quimioterapia; sin embargo, las células madre se pueden administrar en momentos posteriores. Se prefieren en gran medida las células madre hematopoyéticas autólogas purificadas; sin embargo, también se pueden emplear células madre hematopoyéticas alogénicas. La tecnología para la recolección, purificación, almacenamiento, trasplante o infusión de células madre hematopoyéticas se conoce bien por un experto en la técnica. Se prefiere el uso de preparaciones de células madre purificadas Enriquecidas para células hematopoyéticas CD34+ y empobrecidas de células tumorales circulantes. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Mapara MY, y otros, *Exp Hematol.*, enero de 1999, 27(1):169-75; Mohr M, y otros, *Clin Cancer Res.*, mayo de 1999, 5(5):1035-40; Cellular, Tissue and Gene Therapies Advisory Committee, Fecha de la Reunión del 23 de septiembre de 2011, CliniMACS® CD34 Reagent System, Briefing Package, HUD #04-0146, HDE #BH110018, Food and Drug Administration de los Estados Unidos.

20 Mecanismos de administración selectiva de fármacos a los tumores

El mecanismo por el cual la hidroxocobalamina y el ácido ascórbico 2 suministraran selectivamente peróxido de hidrógeno a los tumores es inesperado, ya que no parece haber una base para la selectividad del tumor: ambos agentes se distribuirán esencialmente de manera uniforme en todo el fluido extravascular después de la administración sistémica, y además la velocidad de la reacción para formar peróxido de hidrógeno será esencialmente igual en todo el espacio extracelular tanto en el tumor como en los tejidos normales. Por lo tanto, parecería que no existe una base para la selectividad del tumor en el suministro de fármacos. Sin embargo, el sistema de hidroxocobalamina, ácido ascórbico y peróxido de hidrógeno tiene propiedades farmacocinéticas inesperadas que pueden dar hasta 20 veces el aumento en el suministro de fármacos a los tumores. Esto es especialmente inesperado porque los tumores tienen una disminución del flujo sanguíneo y un aumento de la presión del fluido intersticial en comparación con los tejidos normales, que generalmente sirven como barreras para el suministro de fármacos en los tumores. La presente invención explota estas "barreras" bien conocidas para el suministro de fármacos a los tumores para mejorar paradójicamente el suministro de fármacos a los tumores.

- 35 Un mecanismo de acción puede ser como sigue: Normalmente, la presión del fluido intersticial es de aproximadamente -3 a -6 mmHg con relación a la presión atmosférica. En los tumores, la presión del fluido intersticial es significativamente mayor. El aumento de la presión del fluido intersticial de los tumores se debe a los capilares con fugas que permiten la extravasación de albúmina en el espacio intestinal (lo que aumenta la presión oncótica en el fluido extracelular), el flujo linfático disminuido o ausente, la desregulación del flujo sanguíneo tumoral (que puede 40 conducir a una mayor presión arterial capilar en los tumores) y el aumento de la producción de sustancias osmóticamente activas tales como el ácido hialurónico dentro del microambiente tumoral. Cuando la presión del fluido intersticial aumenta por encima de 0, hay un gran aumento en el volumen de fluido intersticial. En consecuencia, los tumores se caracterizan por un gran aumento en el volumen de fluido intersticial en comparación con los tejidos normales. La relación del volumen de fluido intersticial con respecto al volumen de fluido intracelular es mucho mayor 45 en los tumores que en los tejidos normales: típicamente, aproximadamente de 3 a 12 veces mayor en los tumores que en la mayoría de los tejidos normales. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Munson JM, y otros, *Interstitial fluid flow in cancer: implications for disease progression and treatment*, *Cancer Manag Res.*, 19 de agosto de 2014, 6:317-28; Baronio G, y otros, *Overview of Methods for Overcoming Hindrance to Drug Delivery to Tumors, with Special Attention to Tumor Interstitial Fluid.*, *Front Oncol.*, 23 de julio de 2015, 5:165; Less JR, y otros, *Interstitial 50 hypertension in human breast and colorectal tumors*, *Cancer Res.*, 15 de noviembre de 1992, 52(22):6371-4; Nathanson SD, y otros, *Interstitial fluid pressure in breast cancer, benign breast conditions, and breast parenchyma*, *Ann Surg Oncol.*, julio de 1994, 1(4):333-8; Guyton AC, *Interstitial Fluid Pressure. II. Pressure-Volume Curves of Interstitial Space*, *Circ Res.*, mayo de 1965, 16:452-60; Gullino PM, y otros, *The Interstitial Water Space of Tumors*, *Cancer Res.*, junio de 1965, 25:727-31; O'Connor SW, y otros, *Accessibility of circulating immunoglobulin G to the extravascular compartment of solid rat tumors*, *Cancer Res.*, 1984 Sep, 44(9):3719-23; Boucher Y, y otros, *Tumor angiogenesis and interstitial hypertension*, *Cancer Res.*, 15 de septiembre de 1996, 56(18):4264-6.

Después de la administración intravenosa o sistémica de hidroxocobalamina y ácido ascórbico, habrá un rápido equilibrio de las concentraciones de los agentes entre el plasma y el fluido intersticial. Despues de que se complete la fase distributiva, no habrá esencialmente flujo neto de hidroxocobalamina o ácido ascórbico entre el plasma y el fluido intersticial (excepto por el que resulta de los gradientes generados por la eliminación renal de hidroxocobalamina y ácido ascórbico del plasma). Si la tasa de aclaramiento renal de hidroxocobalamina y ácido ascórbico es pequeña en comparación con la tasa de producción de peróxido de hidrógeno, entonces su efecto será pequeño. Dado que la tasa de producción de peróxido de hidrógeno será esencialmente igual tanto en el plasma como en el fluido intersticial, cualquier flujo neto de peróxido de hidrógeno entre el plasma y el fluido intersticial resultaría solo de los gradientes de concentración que resultan de las diferencias en las tasas de eliminación en los respectivos compartimientos. Dado

que el peróxido de hidrógeno se degrada rápidamente en el compartimiento intravascular y se absorbe rápidamente del fluido intersticial en el agua intracelular, la concentración absoluta de peróxido de hidrógeno tanto en el plasma como en el fluido intersticial será baja, y la magnitud absoluta de cualquier gradiente de concentración entre el plasma y el fluido intersticial también será baja. En ausencia de un gradiente de concentración significativo entre el plasma y el fluido intersticial, el peróxido de hidrógeno en el fluido intersticial se absorberá en gran medida en el espacio intracelular en el microambiente donde se forma. En este caso, la dosis de peróxido de hidrógeno que reciben las células en un sitio particular dependerá de la relación de fluido intersticial a fluido intracelular en el sitio. Dado que esta relación es mucho mayor en los tumores, las células tumorales recibirán una dosis correspondiente mayor de peróxido de hidrógeno que las células en los tejidos normales. (Lo mismo se aplicará para DHA).

El peróxido de hidrógeno se degradará mucho más rápido en el espacio intravascular que en el fluido intersticial. La difusión o captación de peróxido de hidrógeno del fluido intersticial en el espacio intravascular puede ser mucho más rápida que la captación de peróxido de hidrógeno en el espacio intracelular, ya que el peróxido de hidrógeno se descompone rápidamente en el espacio intravascular. La etapa limitante de la velocidad es la difusión de peróxido de hidrógeno en los glóbulos rojos, donde se descompone por la catalasa. El peróxido de hidrógeno en el espacio intravascular se destruye rápidamente por la catalasa: la vida media es de ~ 50 milisegundos. Por el contrario, la vida media de la descomposición del peróxido de hidrógeno por las células del cáncer pancreático en un tumor será de aproximadamente 1,4 segundos. Esta estimación se basa en la extrapolación de las tasas conocidas de consumo de peróxido de hidrógeno por células de cáncer pancreático *in vitro* a densidades celulares *in vivo*. La velocidad de efusión de peróxido de hidrógeno fuera del fluido intersticial en el compartimiento intravascular será una función del área superficial de los capilares por ml de fluido intersticial y el volumen de glóbulos rojos (en los capilares) por ml de fluido intersticial, ambos son mucho más altos en los tejidos normales que en los tumores. Por ejemplo, la relación del volumen de RBC con respecto al volumen de fluido intersticial en fibrosarcomas de rata es de ~ 0,0047; la relación es de ~ 66 veces mayor en el pulmón de rata, 40 veces mayor en el riñón de rata y ~ 32 veces mayor en el corazón. El área superficial capilar/ml de fluido intersticial también es mucho menor en los tumores que en la mayoría de los tejidos normales. En muchos tejidos normales, las relaciones del volumen de glóbulos rojos/volumen de fluido intersticial y el área superficial capilar/volumen de fluido intersticial son tan altas que casi todo el peróxido de hidrógeno se consumirá en el espacio intravascular y la dosis de peróxido de hidrógeno que se suministra al espacio intracelular del tejido normal será muy pequeña en comparación con la que se suministra al espacio intracelular de los tumores.

Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Wagner BA, y otros, An Assay for the Rate of Removal of Extracellular Hydrogen Peroxide by Cells, *Redox Biol.*, 2013, 1(1):210-217; O'Connor SW, y otros, Accessibility of circulating immunoglobulin G to the extravascular compartment of solid rat tumors, *Cancer Res.*, 1984 Sep, 44(9):3719-23; Dobson GP, y otros, Intracellular, interstitial and plasma spaces in the rat myocardium *in vivo*, *J Mol Cell Cardiol.*, diciembre de 1997, 29(12):3357-63; Jain RK, Transport of molecules across tumor vasculature, *Cancer Metastasis Rev.*, 1987, 6(4):559-93.

Mecanismo de acción del DHA

La oxidación del ácido ascórbico, que se催化iza por la hidroxocobalamina, genera DHA. El DHA es rápidamente absorbido por las células y reducido a ácido ascórbico; en el proceso, 2 moléculas de GSH se oxidan a GSSG. El DHA se transporta a las células por los transportadores GLUT, que están muy sobreexpresados en las células cancerosas. El DHA y su producto de descomposición 2,3-DKG son altamente electrofílicos y pueden mediar efectos farmacológicos útiles en células cancerosas, tales como inhibir la mitosis, agotar el GSH intracelular, aumentar el potencial de reducción de GSSG/GSH intracelular en células tumorales, inhibir la glucólisis, agotar el ATP y destruir las células tumorales. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Spielholz C, y otros, Increased facilitated transport of dehydroascorbic acid without changes in sodium-dependent ascorbate transport in human melanoma cells, *Cancer Res.*, 15 de junio de 1997, 57(12):2529-37; Barron CC, y otros, Facilitative glucose transporters: Implications for cancer detection, prognosis and treatment; *Metab. Clin. Exp.*, febrero 2016, 65(2):124-39; Gambhir SS, y otros, A tabulated summary of the FDG PET literature, *J Nucl Med.*, mayo de 2001, 42(5 Suppl):1S-93S; Poydock ME, y otros, Mitogenic inhibition and effect on survival of mice bearing L1210 leukemia using a combination of dehydroascorbic acid and hydroxycobalamin, *Am J Clin Oncol.*, junio de 1985, 8(3):266-9; Yun J, y otros, Vitamin C selectively kills KRAS and BRAF mutant colorectal cancer cells by targeting GAPDH, *Science*, 11 de diciembre de 2015, 350(6266):1391-6.

Mecanismo de acción del peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno en presencia de metales de transición genera especies reactivas de oxígeno que pueden dañar el ADN y los componentes celulares. El peróxido de hidrógeno también puede inducir estrés oxidativo, agotar el GSH intracelular, aumentar el potencial de reducción de GSSG/GSH intracelular en células tumorales, inhibir la glucólisis, agotar el ATP, sensibilizar las células a agentes que dañan al ADN y causar citotoxicidad. Los efectos se aumentan por altos niveles intracelulares de ácido ascórbico, que elevan los niveles de hierro libre en las células. La inhibición del GR también aumenta los efectos del peróxido de hidrógeno. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Nakamura J, y otros, Micromolar concentrations of hydrogen peroxide induce oxidative DNA lesions more efficiently than millimolar concentrations in mammalian cells, *Nucleic Acids Res.*, 2003, 31(6):1790-5; Byrnes RW, Evidence for involvement of multiple iron species in DNA single-strand scission by H₂O₂ in HL-60 cells,

Free Radic Biol Med., 1996, 20(3):399-406; Nathan CF, y otros, Antitumor effects of hydrogen peroxide in vivo, J Exp Med., 1 de noviembre de 1981, 154(5):1539-53; Kurz T, y otros, Lysosomal redox-active iron is important for oxidative stress-induced DNA damage, Ann N Y Acad Sci., junio de 2004, 1019:285-8; LaCagnin LB, y otros, Metabolic changes in alveolar type II cells after exposure to hydrogen peroxide, Am J Physiol., agosto de 1990, 259(2 Pt 1):L57-65; Colussi C, y otros, H₂O₂-induced block of glycolysis as an active ADP-ribosylation reaction protecting cells from apoptosis, FASEB J., noviembre de 2000, 14(14):2266-76; Duarte TL, y otros, Vitamin C modulation of H₂O₂-induced damage and iron homeostasis in human cells, Free Radic Biol Med., 15 de octubre de 2007, 43(8):1165-75; Nathan CF, y otros, Tumor cell anti-oxidant defenses. Inhibition of the glutathione redox cycle enhances macrophage-mediated cytotoxicity, J Exp Med., 1 de abril de 1981, 153(4):766-82; Jahngren-Hodge J, y otros, Regulation of ubiquitin-conjugating enzymes by glutathione following oxidative stress, J Biol Chem., 7 de noviembre de 1997, 272(45):28218-26.

Mecanismos de acción de la inhibición de la glutatión reductasa

La concentración de GSH en las células está típicamente en el intervalo de 0,5 a 10 mM. Cuando el GSH se oxida, el GSSG formado se reduce rápidamente de nuevo a GSH por la glutatión reductasa. Las células tienen una capacidad tremenda para reducir GSSG. Por ejemplo, la capacidad reductora de las células de hepatocitos para GSSG in vitro es de ~ 250 mmol/hora por litro de fluido intracelular. Para deprimir los niveles de GSH intracelular, es necesario oxidar GSH a una velocidad que supere la capacidad reductora celular de GSSG. Esto generalmente requeriría la entrega de una cantidad enorme e impráctica de agente oxidante. La adición de un inhibidor de la reductasa de glutatión evita la reducción de GSSG y de esta manera permite que los niveles de GSH intracelular disminuyan por bajos niveles de agentes oxidantes tales como el peróxido de hidrógeno. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Tribble DL, y otros, Oxygen dependence of oxidative stress. Rate of NADPH supply for maintaining the GSH pool during hypoxia, Biochem Pharmacol., 15 de febrero de 1990, 39(4):729-36.

25 LISTA A: tipos de cáncer que se pueden tratar

Los cánceres metastásicos que pueden tratarse con los métodos y regímenes de tratamiento y modalidades de la presente invención incluyen: Cáncer metastásico, cáncer metastásico refractario, cáncer metastásico relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria), cáncer metastásico relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria), cáncer metastásico relacionado con PALB2 (mutación hereditaria), cáncer metastásico en el contexto de una mutación(s) hereditaria(s) de la vía BRCA/Fanconi, cáncer metastásico en el contexto de una(s) mutación(es) adquirida(s) de la vía BRCA/Fanconi, cáncer pancreático relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria), cáncer de próstata relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria), cáncer de ovario relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria), cáncer de mama relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria), cáncer de trompas de Falopio relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria), cáncer pancreático relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria), cáncer de próstata relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria), cáncer de ovario relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria), cáncer de trompas de Falopio relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria), cáncer de mama relacionado con PALB2 (mutación hereditaria), cáncer de próstata relacionado con PALB2 (mutación hereditaria), cáncer de ovario relacionado con PALB2 (mutación hereditaria), cáncer de mama relacionado con PALB2 (mutación hereditaria), cáncer de ovario relacionado con PALB2 (mutación hereditaria), cáncer de mama relacionado con RAD50 (mutación hereditaria), cánceres que se desarrollan en pacientes con una(s) mutación(es) de línea germinal hereditaria(s) o una(s) mutación(es) somática(s) adquirida(s) en un gen o genes involucrados en la reparación de la reticulación de ADN, recombinación homóloga y/o reparación de ADN, cáncer de mama (adenocarcinoma lobular), cáncer de mama (sarcoma), cáncer de mama (triple negativo), cáncer de mama (inflamatorio), cáncer de mama (Paget), cáncer de próstata (adenocarcinoma), cáncer de páncreas (adenocarcinoma, Etapa I-IV), cáncer de ovario (seroso), cáncer de ovario (endometriode), cáncer de ovario (célula clara), cáncer de ovario (mucinoso), adenocarcinoma, carcinoma de células basales, cáncer de conductos biliares, cáncer de vejiga, cáncer de bronquios, tumor carcinoide, cáncer de cuello uterino (escamoso), cáncer de cuello uterino (adenocarcinoma), cáncer colorrectal, cáncer de colon, cáncer de duodeno, cáncer de endometrio, cáncer de endometrio endometriode, cáncer de esófago, cáncer de esófago (escamoso), cáncer de esófago (adenocarcinoma), sarcoma de Ewing, cáncer de trompas de Falopio, Melanoma ocular, Histiocitoma fibroso óseo maligno, osteosarcoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumores estromales gastrointestinales (GIST), tumores germinales, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular, cáncer de hipofaringe, tumores celulares malignos, carcinoma de células renales, cáncer de laringe, cáncer de labio y cavidad oral, leiomiosarcomas, linfoma, leucemia, leucemia de células T, linfoma de células B, leucemia de células B, mieloma, linfoma no Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón (adenocarcinoma), cáncer de pulmón (células grandes), cáncer de pulmón (células escamosas), melanoma, carcinoma de células de Merkel, mesotelioma, cáncer de cavidad nasal y senos paranasales, cáncer de nasofaringe, cáncer neuroendocrino, cáncer oral, cáncer de orofaringe, tumores neuroendocrinos pancreáticos, cáncer de senos paranasales y cavidad nasal, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer de faringe, feocromocitoma, cáncer de recto, cáncer de células renales, cáncer renal claro, cáncer renal cromófobo, cáncer renal papilar, cáncer renal de pelvis y uréter, cáncer de células de transición, cáncer de las glándulas salivales, sarcoma, carcinoma de células escamosas, rabdomiosarcoma, cáncer del intestino delgado, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de cuello escamoso con tumor primario oculto, cáncer de testículo, cáncer de tiroides (papilar, folicular, medular y anaplásico), cáncer de células de transición de la pelvis renal y el uréter, cáncer uretral, cáncer uterino, cáncer indiferenciado, sarcoma endometrial uterino, cáncer vaginal y cáncer vulvar. Los

métodos de tratamiento del cáncer de la presente invención pueden usarse para tratar, pero no se limitan a tratar, los cánceres que surgen en pacientes con una(s) mutación(es) de línea germinal heredada o una(s) mutación(es) somática(s) adquirida(s) en ATR, BARD1, BLM, BRCA1, BRCA2, BRIP1 (FANCJ, BACH1), EME1, ERCC1, ERCC4, FAN1, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCJ, FANCL, FANCM, FANCN, FANCO, FANCP, FANCQ, FANCR, FANCS, FANCT, HELQ, MEN1, MUS81, NBN (NBS1), PALB2, RAD50, RAD51 (FANCR), RAD51C (FANCO), RAD51D, REV1, SLX4 (FANCP), UBE2T (FANCT), USP1, WDR48, XPF, XRCC2, XRCC3, u otros genes involucrados en la reparación de la reticulación de ADN, recombinación homóloga o reparación de ADN.

- 10 Los nombres de los genes anteriores se basan en el Sistema de Nomenclatura del Genoma Humano HUGO, que es bien conocido por un experto en la técnica. Las células cancerosas con una mutación hereditaria o adquirida en los genes anteriores tienen una mayor sensibilidad a los agentes dañinos del ADN y, especialmente, a los agentes de reticulación del ADN. Los métodos para identificar tales mutaciones tumorales hereditarias y somáticas se conocen bien por un experto en la técnica. Las descripciones más detalladas de los cánceres metastásicos, todos los cuales 15 están dentro del alcance de la presente invención, se proporcionan en la siguiente referencia: Holland-Frei Cancer Medicine, 6ta edición, editado por Kufe DW, y otros, BC Decker Inc., Hamilton, Ontario.

Mecanismos de sensibilización a agentes que dañan al ADN

- 20 La aplicabilidad de la presente invención a la sensibilización de células a agentes de reticulación de ADN se debe a los mecanismos comunes de desintoxicación mediada por GSH de los electrófilos y los mecanismos comunes involucrados en la reparación de los enlaces cruzados entre hebras de ADN, independientemente del agente de enlace cruzado particular. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Rajski SR, y otros, Chem Rev., 17 de diciembre de 1998, 98(8):2723-2796. La aplicabilidad de la presente invención para sensibilizar a las células tumorales a los 25 agentes que dañan al ADN en general es el resultado de los múltiples mecanismos de reparación del ADN que se inhiben por un aumento en el potencial de reducción de GSH intracelular. Esto dará como resultado una profunda sinergia: la actividad antitumoral de las combinaciones de fármacos de la presente invención es mayor que la actividad antitumoral aditiva de los fármacos individuales.
- 30 Múltiples etapas requeridas para la reparación de los monoadductos de ADN-fármaco y la reticulación entre hebras de ADN son sensibles a redox y se inhiben por un aumento en el potencial de reducción intracelular de GSSG/GSH. Esto explica la profunda hipersensibilidad al melfalán inducida por el estrés oxidativo que se observa con el BCNU y la adriamicina. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Jevtović-Todorović V, y otros, J Cancer Res Clin Oncol., 1991, 117(4):313-20; Jevtović-Todorović V, y otros, Biochem Pharmacol., 6 de octubre de 1992, 44(7):1383-93.

- 40 El estrés oxidativo y un aumento en el potencial de reducción intracelular de GSSG/GSH pueden inhibir las proteínas involucradas en la reparación del ADN por una variedad de mecanismos, que incluyen la S-glutatiónilación de las proteínas, la formación de disulfuro intermolecular, la formación de disulfuro intramolecular y al afectar la desintoxicación de los ROS, lo que provoca un aumento en los niveles de ROS que oxidan los tióles de proteínas críticas. Además, puede comprometer la producción de energía celular. Un aumento en el potencial de reducción intracelular de GSSG/GSH conduce a cambios globales en el metabolismo celular que afectan a miles de proteínas sensibles a redox. Se requieren proteínas sensibles a redox para todas las principales vías de reparación del ADN.
- 45 La enzima MGMT desintoxica el BCNU al catalizar la eliminación de los aductos del fármaco de las bases de guanina en el ADN. La MGMT es una enzima sensible a redox, que depende de una cisteína de sitio activo que se glutatiónila e inhibe en condiciones oxidativas. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Niture SK, y otros, Human MGMT is a prime target for inactivation by oxidative stress, mediated by glutathionylation and oxidation of the active-site cysteine145, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 2005, 46:857.

- 50 La ubiquitinación, la SUMOilación y la neddilación son críticas para múltiples etapas en múltiples vías de reparación del ADN, que incluyen la reparación por escisión de nucleótidos (NER), la recombinación homóloga (HR), el emparejamiento de una sola hebra (SSA), la unión de extremos no homólogos (NHEJ), la NHEJ alternativa y la síntesis de ADN translesión. Múltiples etapas en las vías enzimáticas de ubiquitinación, SUMOilación y neddilación dependen de las cisteínas del sitio activo que son sensibles a redox y se inhiben por glutatiónilación y oxidación de los sitios activos. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Bossis G, y otros, Regulation of SUMOylation by reversible oxidation of SUMO conjugating enzymes, Mol Cell., 3 de febrero de 2006, 21(3):349-57; Kumar A, y otros, The bacterial fermentation product butyrate influences epithelial signaling via reactive oxygen species-mediated changes in cullin-1 neddylation, J Immunol., 1 de enero de 2009, 182(1):538-46; Jahngen-Hodge J, y otros, Regulation of ubiquitin-conjugating enzymes by glutathione following oxidative stress, J Biol Chem., 7 de noviembre de 1997, 272(45):28218-26; Obin M, y otros, Redox regulation of ubiquitin-conjugating enzymes: mechanistic insights using the thiol-specific oxidant diamide, FASEB J., mayo de 1998, 12(7):561-9; Nouspikel T, Multiple roles of ubiquitination in the control of nucleotide excision repair, Mech Ageing Dev., agosto de 2011, 132(8-9):355-65; Ramadan K, y otros, Degradation-linked ubiquitin signal and proteasome are integral components of DNA double strand break repair: New perspectives for anti-cancer therapy, FEBS Lett., 16 de septiembre de 2011, 585(18):2868-75; Bekker-Jensen S, y otros, The ubiquitin- and SUMO-dependent signaling response to DNA double-strand breaks, FEBS Lett., 2011, 585(18):2868-75; Bekker-Jensen S, y otros, The ubiquitin- and SUMO-dependent signaling response to DNA double-strand breaks, FEBS Lett., 2011, 585(18):2868-75.

- septiembre, 585(18):2914-9; Kee Y, y otros, Inhibition of the Nedd8 system sensitizes cells to DNA interstrand cross-linking agents, Mol Cancer Res., marzo de 2012, 10(3):369-77; Cukras S, y otros, Inactivating UBE2M impacts the DNA damage response and genome integrity involving multiple cullin ligases, PLoS One., 15 de julio de 2014, 9(7):e101844; Al-Hakim A, The ubiquitous role of ubiquitin in the DNA damage response, DNA Repair (Amst), 10 de diciembre de 2010, 9(12):1229-40.
- La proteína Ku es necesaria para la reparación NHEJ de las roturas de doble hebra de ADN y es sensible a redox. El estrés oxidativo también inhibe la proteína cinasa dependiente de ADN (DNA-PKcs) e inhibe la localización de DNA-PKcspThr2609 en roturas de doble cadena y afecta la reparación. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Zhang WW, Biochem J., 1 de agosto de 1993, 293(Pt 3):769-74; Mladenov E, y otros, Induction and repair of DNA double strand breaks: the increasing spectrum of non-homologous end joining pathways, Mutat Res., 3 de junio de 2011, 711(1-2):61-72; Bacsi A, y otros, Modulation of DNA-dependent protein kinase activity in chlorambucil-treated cells, Free Radic Biol Med., 15 de diciembre de 2005, 39(12):1650-9; Boldogh I, y otros, Reduced DNA double strand breaks in chlorambucil resistant cells are related to high DNA-PKcs activity and low oxidative stress, Toxicology, 15 de noviembre de 2003, 193(1-2):137-52.
- La topoisomerasa II está involucrada en el desenrollamiento del ADN, está involucrada en múltiples etapas de la reparación del ADN y es sensible a redox. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Li TK, y otros, Activation of topoisomerase II-mediated excision of chromosomal DNA loops during oxidative stress, Genes Dev., 15 de junio de 1999, 13(12):1553-60; Wang H, y otros, Stimulation of topoisomerase II-mediated DNA damage via a mechanism involving protein thiolation, Biochemistry, 20 de marzo de 2001, 40(11):3316-23, Kawiak A, y otros, Induction of apoptosis by plumbagin through reactive oxygen species-mediated inhibition of topoisomerase II, Toxicol Appl Pharmacol., 15 de septiembre de 2007, 223(3):267-76; Pu QQ, y otros, Induction of alkylator (melfalán) resistance in HL60 cells is accompanied by increased levels of topoisomerase II expression and function, Mol Pharmacol., julio de 1999, 56(1):147-53.
- XPA se requiere para NER, y la deficiencia de XPA sensibiliza las células al melfalán. XPA es sensible a redox. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Smirnova J, y otros, Quantitative electrospray ionization mass spectrometry of zinc finger oxidation: the reaction of XPA zinc finger with H₂O₂, Anal Biochem., 15 de octubre de 2007, 369(2):226-31; Smirnova J, y otros, Reaction of the XPA zinc finger with S-nitrosoglutathione, Chem Res Toxicol., febrero de 2008, 21(2):386-92.
- Se requiere RPA para todas las principales vías de reparación del ADN y es sensible a redox. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Zou Y, y otros, Functions of human replication protein A (RPA): from DNA replication to DNA damage and stress responses, J Cell Physiol, agosto de 2006, 208(2):267-73; Park JS, y otros, Zinc finger of replication protein A, a non-DNA binding element, regulates its DNA binding activity through redox, J Biol Chem., 8 de octubre de 1999, 274(41):29075-80; Wang M, y otros, Role of zinc-finger motif in redox regulation of human replication protein A, Antioxid Redox Signal., agosto de 2001, 3(4):657-69; Cooper AJ, y otros, Reversible and irreversible protein glutathionylation: biological and clinical aspects, Expert Opin Drug Metab Toxicol, julio de 2011, 7(7):891-910, Epub 11 de mayo de 2011.
- Las deubiquitinasa (DUB) son críticas para múltiples vías de reparación del ADN y son sensibles a redox. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Lee JG, y otros, Reversible inactivation of deubiquitinases by reactive oxygen species in vitro and in cells, Nat Commun. 2013, 4:1568; Jacq X, y otros, Deubiquitylating enzymes and DNA damage response pathways, Cell Biochem Biophys., septiembre de 2013, 67(1):25-43; Oestergaard VH, y otros, Deubiquitination of FANCD2 is required for DNA crosslink repair, Mol Cell., 14 de diciembre de 2007, 28(5):798.
- XRCC3 es esencial para múltiples etapas de HR; la deficiencia de XRCC3 se caracteriza por una hipersensibilidad extrema a los agentes de reticulación de ADN. La proteína tiene múltiples grupos de cisteína que son sensibles a redox, susceptibles a la modificación por agentes reactivos de tiol electrófilos y glutationilación. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Nikolova T, y otros, Chloroethylnitrosourea-induced cell death and genotoxicity: cell cycle dependence and the role of DNA double-strand breaks, HR and NHEJ., Cell Cycle., 15 de julio de 2012, 11(14):2606-19; Pierre-Marie G, y otros, Oxidative Stress in Mammalian Cells Impinges on the Cysteines Redox State of Human XRCC3 Protein and on Its Cellular Localization, PLoS One., 2013, 8(10): e75751.
- La ribonucleótido reductasa (RNR) tiene grupos críticos de cisteína y es una enzima sensible a redox que se involucra en la reparación del daño del ADN. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Holmgren A, y otros, The use of thiols by ribonucleotide reductase, Free Radic Biol Med., 1 de diciembre de 2010, 49(11):1617-28.
- La endonucleasa 1 apurínica/apirimidinica (AP) humana (APE1) es una enzima sensible a redox que desempeña un papel clave en las vías de reparación de la excisión de la base del ADN. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Kim YJ, y otros, S-glutathionylation of cysteine 99 in the APE1 protein impairs abasic endonuclease activity, J Mol Biol., 2 de diciembre de 2011, 414(3):313-26.
- Se requiere ATP para múltiples etapas en la reparación del ADN. Múltiples enzimas críticas involucradas en la producción de ATP son sensibles a redox y se inhiben por el estrés oxidativo. La aconitasa es una enzima sensible a

redox que se involucra en la producción de energía en el ciclo de Krebs. La gliceraldosa 3-fosfato deshidrogenasa es una enzima sensible a redox que es esencial para la producción de ATP por glucólisis. El portador mitocondrial de carnitina/acilcarnitina (CAC) es sensible a redox: se requiere para el transporte de acilcarnitinas a las mitocondrias y la β-oxidación de los ácidos grasos, que es una fuente importante de ATP para las células del cáncer de próstata. La α-cetoglutarato deshidrogenasa (KGDH) es una enzima sensible a redox crítica para la generación de energía en el ciclo de Krebs. La isocitrato deshidrogenasa es una enzima sensible a redox en el ciclo de Krebs. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Lushchak OV, y otros, Aconitase postraduccional modificación como una clave en el enlace entre el ciclo de Krebs, la homeostasis del hierro, la señalización redox y el metabolismo de las especies reactivas del oxígeno, *Redox Rep.*, enero de 2014, 19(1):8-15; Brodie AE, y otros, Cellular recovery of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity and thiol status after exposure to hydroperoxides, *Arch Biochem Biophys.*, enero de 1990, 276(1):212-8; Brodie AE, y otros, Reversible oxidation of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase thiols in human lung carcinoma cells by hydrogen peroxide, *Biochem Biophys Res Commun.*, 14 de octubre de 1987, 148(1):120-5; Giangregorio N, y otros, Glutathione controls the redox state of the mitochondrial carnitine/acylcarnitine carrier Cys residues by glutathionylation, *Biochim Biophys Acta.*, Noviembre 2013, 1830(11):5299-304; Liu Y, Fatty acid oxidation is a dominant bioenergetic pathway in prostate cancer, *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, 2006, 9(3):230-4; McLain AL, y otros, Glutathionylation of α-ketoglutarate dehydrogenase: the chemical nature and relative susceptibility of the cofactor lipoic acid to modification, *Free Radic Biol Med.*, agosto de 2013, 61:161-9; Kil IS, y otros, Regulation of mitochondrial NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase activity by glutathionylation, *J Biol Chem.*, 18 de marzo de 2005, 280(11):10846-54

Las fosfatases de tirosina de proteínas (PTP) están involucradas en múltiples vías de reparación del ADN y son enzimas sensibles a redox. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Sohn J, y otros, Catalytic and chemical competence of regulation of cdc25 phosphatase by oxidation/reduction, *Biochemistry.*, 2 de septiembre de 2003, 42(34):10060-70

Existen muchas otras enzimas y proteínas sensibles a redox además de las enumeradas anteriormente que son críticas para la reparación del daño del ADN y que se inhiben por el estrés oxidativo y que se inhibirán en los tumores por la presente invención, incluida la combinación de BCNU, hidroxocobalamina y ácido ascórbico.

30 Mecanismo de protección de la catalasa por etanol

El papel del etanol es evitar la inactivación de la catalasa de glóbulos rojos. La descomposición intravascular del peróxido de hidrógeno en el contexto de la inhibición de la glutatión reductasa depende de la actividad enzimática de la catalasa de glóbulos rojos. La catalasa puede existir en varias formas. El peróxido de hidrógeno oxida el hierro hemo de la forma de reposo de la catalasa (es decir, ferricatalasa) a un grupo oxiferrilo con un radical porfirín llamado Compuesto I, en el proceso se crea una molécula de agua. El Compuesto I luego oxida otra molécula de peróxido de hidrógeno, regenerando la forma de catalasa de ferrocatalasa, y en el proceso, crea una molécula de oxígeno y otra molécula de agua. El resultado neto es que las 2 moléculas de peróxido de hidrógeno se convierten por la catalasa en una molécula de oxígeno molecular y dos moléculas de agua. El Compuesto I, sin embargo, también puede reducirse por un solo electrón al Compuesto II, que es una forma inactiva de la catalasa. El NADPH se une a la catalasa e inhibe la formación del Compuesto II. La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), que es un trastorno genético hereditario común, afecta la producción de NADPH y puede dar como resultado la acumulación del Compuesto II y la inhibición de la catalasa. Esto puede conducir a hemólisis o metahemoglobinemia en condiciones de estrés oxidativo. La deficiencia de G6PD adquirida o la producción de NADPH deteriorada conducirían al mismo resultado. Las bajas concentraciones de etanol son capaces de prevenir la inactivación de la catalasa al convertir el Compuesto I en ferricatalasa; en el proceso, el etanol se oxida a acetaldehído. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Kirkman HN, y otros, Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries, *Trends Biochem Sci.*, enero de 2007, 32(1):44-50; Kirkman HN, y otros, The function of catalase-bound NADPH, *J Biol Chem.*, 15 de enero de 1987, 262(2):660-6; Kirkman HN, y otros, Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry, *J Biol Chem.*, 14 de mayo de 1999, 274(20): 13908-14;

Método para proteger a los sujetos de catalasa

El alcance de la presente invención incluye métodos para prevenir la pérdida de la función de la catalasa y para prevenir la hemólisis inducida por oxidantes y/o la formación de metahemoglobina en sujetos tratados con fármacos o agentes oxidantes que generan peróxido de hidrógeno; dichos métodos comprenden la administración sistémica de etanol. El etanol se administra antes o durante la exposición al oxidante. La dosis de etanol está en el intervalo aproximado de 500 mg a 40 gramos. El etanol se puede administrar por vía oral o intravenosa. En una modalidad preferida, la dosis de etanol es de aproximadamente 3 a 6 gramos/m², administrada durante aproximadamente 1 hora por vía intravenosa. El fármaco también se puede administrar como una infusión intravenosa constante durante períodos de tiempo más largos.

Modalidad E2

La presente invención también se refiere a un método para el tratamiento y tratamiento efectivo del cáncer metastásico y el cáncer metastásico refractario. El método, denominado como modalidad E2, comprende lo siguiente:

- a. La administración de melfalán; y
- b. La administración de BCNU; y
- c. La administración de hidroxocobalamina; y
- d. La administración de ácido ascórbico; y
- 5 e. Opcionalmente la administración de etanol; y
- f. Opcionalmente la administración de células madre de médula ósea.

Modalidad Ee2

10 La modalidad Ee2 de la presente invención es un conjunto de fármacos para su uso en un régimen para el tratamiento y el tratamiento efectivo del cáncer metastásico y el cáncer metastásico refractario. El conjunto de fármacos comprende:

- a. Melfalán; y
- b. BCNU; y
- c. Hidroxocobalamina; y
- d. Ácido ascórbico; y
- 15 e. Opcionalmente etanol.

20 El régimen de tratamiento comprende:

- a. La administración de melfalán; y
- b. La administración de BCNU; y
- c. La administración de hidroxocobalamina; y
- 25 d. La administración de ácido ascórbico; y
- e. Opcionalmente la administración de etanol; y
- f. Opcionalmente la administración de células madre de médula ósea.

Cánceres que se pueden tratar

30 Los cánceres que se pueden tratar con las modalidades E2 y Ee2 se describen en la LISTA A.

Infusiones de células madre de médula ósea

35 En modalidades preferidas, las células madre de médula ósea se infunden para revertir la toxicidad de la médula ósea. Las infusiones de células madre se administran generalmente si la dosis de melfalán excede aproximadamente 50 mg/m² o la dosis de BCNU excede aproximadamente 200 mg/m² o si el paciente tiene, o se espera que tenga, una supresión de la médula ósea prolongada después del tratamiento con el fármaco. (Esto se aplica a todas las modalidades de la presente invención en las que se usan BCNU y/o melfalán). Las células madre se recogen antes 40 de la administración de los fármacos de quimioterapia (por ejemplo, el melfalán) y se purifican y almacenan. Las células madre de la médula ósea se infunden preferentemente 1-2 días después de los fármacos de quimioterapia. Sin embargo, las células madre se pueden administrar en momentos posteriores. Se prefieren fuertemente las células madre de médula ósea autólogas purificadas. Sin embargo, también se pueden emplear células madre de médula ósea alogénicas. Se prefiere el uso de preparaciones de células madre purificadas Enriquecidas para células 45 hematopoyéticas CD34+ y empobrecidas de células tumorales circulantes. También pueden usarse células madre de médula ósea no purificadas.

Dosis y administración de melfalán

50 En las modalidades preferidas de E2 y Ee2, el melfalán está en los intervalos de dosis de aproximadamente 25 a 50 mg/m², 50 a 75 mg/m², 75 a 100 mg/m², 100 a 150 mg/m² y 10 a 200 mg/m². En modalidades preferidas, la dosis de melfalán es de aproximadamente 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 y 200 mg/m². El melfalán se administra IV durante un período de aproximadamente 5 a 60 minutos, aunque se pueden emplear tiempos más largos si se toman medidas para que el melfalán no se degrade en la solución IV antes 55 de la administración. El melfalán se administra inmediatamente antes, simultáneamente con, o inmediatamente después del BCNU, hidroxocobalamina y ácido ascórbico. En las modalidades preferidas, el melfalán, el BCNU, la hidroxocobalamina y el ácido ascórbico se administran todos dentro de un período de tiempo de 6 horas, 5 horas, 4 horas, 3 horas, 2 horas y 1 hora.

60 Dosificación y administración de BCNU

En las modalidades preferidas de E2 y Ee2, la dosis de BCNU es de aproximadamente 50 a 400 mg/m², 50 a 75 mg/m², 75 a 125 mg/m², 125 a 200 mg/m² y 200 a 400 mg/m². En las modalidades preferidas, la dosis de BCNU es de aproximadamente 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375 y 400 mg/m². El BCNU se administra IV a una velocidad de aproximadamente 3 mg/m²/min. El BCNU se puede administrar antes,

simultáneamente o inmediatamente después del melfalán. El BCNU se administra preferentemente antes que el ácido ascórbico.

Dosis y administración de etanol

5 En las modalidades de E2 y Ee2, la dosis de etanol está en los intervalos de aproximadamente 0,5 a 40 gramos, 500 mg a 3 gramos/m², 3 a 6 gramos/m² y 6 a 12 gramos/m². En las modalidades preferidas, la dosis de etanol es de aproximadamente, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 gramos. El etanol se puede administrar por vía oral o IV. Cuando se administra por vía intravenosa, el etanol se administra durante aproximadamente 30 minutos a 6 horas, en función de la dosis. El momento de la administración de etanol es antes o simultáneamente con la administración del ácido ascórbico de manera que el etanol esté presente en la sangre durante el tiempo de exposición al ácido ascórbico y la formación de peróxido de hidrógeno. En una modalidad preferida, el etanol se administra en el momento de la administración de BCNU dentro de un período de 1 hora de administración de ácido ascórbico.

10

15 Dosis y administración de hidroxocobalamina

En las modalidades preferidas de E2 y Ee2, la dosis de hidroxocobalamina está en los intervalos de aproximadamente 50 a 40 000 mg, 50 a 500 mg, 500 a 1000 mg, 1 a 3 gramos y 3 a 10 gramos. En otras modalidades preferidas, la dosis de hidroxocobalamina es de aproximadamente 50 mg, 100 mg, 250 mg, 500 mg y 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20 gramos. En otras modalidades preferidas, la dosis de hidroxocobalamina está en los intervalos de aproximadamente 25 a 10 000 mg/m², 25 a 250 mg/m², 250 a 500 mg/m², 0,5 a 1,5 gramos/m² y 1,5 a 5 gramos/m². En otras modalidades preferidas, la dosis de hidroxocobalamina es de aproximadamente 25 mg/m², 50 mg/m², 125 mg/m², 250 mg/mg y 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 y 10 gramos/m². La hidroxocobalamina se administra IV durante aproximadamente 5 a 60 minutos. Tanto la hidroxocobalamina como el ácido ascórbico se pueden administrar simultáneamente o esencialmente al mismo tiempo. Alternativamente, la hidroxocobalamina se puede administrar horas antes que el ácido ascórbico, porque la hidroxocobalamina tiene una vida media en plasma de aproximadamente 26 a 31 horas. En una modalidad preferida, la hidroxocobalamina se administra durante aproximadamente 10-15 minutos, inmediatamente antes de la administración del ácido ascórbico, que se administra durante un período de tiempo de aproximadamente 30-60 minutos.

20

25

30

Dosis y administración de ácido ascórbico

35 En las modalidades preferidas de E2 y Ee2, la dosis de ácido ascórbico IV está en el intervalo de aproximadamente, 1 a 3 gramos/m², 3 a 6 gramos/m², 6 a 12 gramos/m², 12 a 25 gramos/m² y 0,5 a 90 gramos/m². En las modalidades preferidas, la dosis de ácido ascórbico es de aproximadamente, 0,5, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125 y 150 gramos. El ácido ascórbico se administra por vía intravenosa durante aproximadamente 5 a 360 minutos. En modalidades preferidas, el ácido ascórbico se administra durante aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, y 360 minutos.

40

Momento de la administración del fármaco

45 En las modalidades preferidas de E2 y Ee2, el melfalán, el BCNU, el etanol, la hidroxocobalamina y el ácido ascórbico se administran todos dentro de un período de tiempo de aproximadamente 6 horas. Los fármacos también se pueden administrar como dosis divididas dentro del período de tiempo. En las modalidades preferidas, el período de tiempo es de aproximadamente 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300 o 360 minutos, 2 días antes de la infusión de células madre de médula ósea (es decir, el día menos 2, donde el día 0 es el día de la infusión de células madre).

Nomenclatura utilizada para etiquetar las modalidades

50 En aras de la simplicidad y la economía de espacio, las modalidades que se refieren a dosis específicas de múltiples fármacos y tipos específicos de cánceres metastásicos se especifican de manera única con las reglas de nomenclatura descritas más abajo:

55 I. "En" se refiere al método para tratar el cáncer descrito en la modalidad número n. Por ejemplo, E2 se refiere a los métodos de la modalidad E2.

II. "Een" se refiere al conjunto de fármacos descritos en la modalidad Een. Por ejemplo, Ee2 se refiere al conjunto de fármacos descritos en la modalidad Ee2.

III. "EnS" y "EenS" se refieren a modalidades En y Een en las que se infunden células madre. Tenga en cuenta que la falta de un sufijo "S" no implica que las células madre no se infundan.

60 IV. "En(ABCDFTUM)" y "Een(ABCDFTUM)" se refieren respectivamente a las modalidades En y Een, en donde:

- 65 a) la dosis de melfalán se da por el valor de "A",
b) la dosis de BCNU se da por "B",
c) la dosis de etanol se da por "C",
d) la dosis de hidroxocobalamina se da por "D",

- e) la dosis de ácido ascórbico se da por "F"
f) el tipo de cáncer se da por "TUM" como se describe más abajo.

- V. "A", "B", "C", "D", "F", "T", "U" y "M" son números iguales a 0, 1, 2, 3 o 4.
VI. "ABCDFTUM" es un número en base 5. La base 5 es el sistema matemático en el que los números o dígitos individuales se limitan a 0, 1, 2, 3 y 4 en el sistema de numeración posicional. Por el contrario, la base 10 es el sistema de numeración estándar con números individuales 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9. Contar en base 5 es bien conocido por un experto en la técnica. La siguiente referencia se refiere a este asunto: Oxford Users' Guide to Mathematics Editado por Eberhard Zeidler, Oxford University Press, Oxford, Reino Unido. Página 227.
VII. "A" se refiere a la dosis aproximada de melfalán, en donde A=0 significa que la dosis de melfalán es de 25 a 50 mg/m², A=1 significa 50 a 75 mg/m², A=2 significa 75 a 100 mg/m², A=3 significa 100 a 150 mg/m² y A=4 significa 10 a 200 mg/m².
VIII. "B" se refiere a la dosis aproximada de BCNU; en donde B=0 significa que la dosis es de 50 a 75 mg/m², B=1 significa 75 a 125 mg/m², B=2 significa 125 a 200 mg/m², B=3 significa 200 a 400 mg/m² y B=4 significa 50-400 mg/m².
IX. "C" se refiere a la dosis aproximada de etanol; en donde C=0 significa sin etanol, C=1 significa que la dosis de etanol es de 500 mg a 3 gramos/m², C=2 significa 3 a 6 gramos/m², C=3 significa 6 a 12 gramos/m², C=4 significa 500 mg a 40 gramos/m².
X. "D" se refiere a la dosis aproximada de hidroxocobalamina; en donde D=0 significa que la dosis es de 25 a 250 mg/m²; D=1 significa 250 a 500 mg/m², D=2 significa 0,5 a 1,5 gramos/m²; D=3 significa 1,5 a 5 gramos/m², y D=4 significa 25 a 20 000 mg/m² de hidroxocobalamina.
XI. "F" se refiere a la dosis aproximada de ácido ascórbico; en donde F=0 significa que la dosis es de 1 a 3 gramos/m², F=1 significa 3 a 6 gramos/m², F=2 significa 6 a 12 gramos/m², F=3 significa 12 a 25 gramos/m² y F=4 significa 0,5 a 90 gramos/m².
XII. "TUM" se refiere al tipo de cáncer o tumor metastásico, en donde cuando TUM tiene los valores enumerados más abajo, los tipos de cáncer metastásico que se pueden tratar con la modalidad son como se indica más abajo.

	TUM= 000	Cáncer metastásico
	TUM= 001	Cáncer metastásico refractario
30	TUM= 002	Cáncer metastásico relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria)
	TUM= 003	Cáncer metastásico relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria)
	TUM= 004	Cáncer metastásico relacionado con PALB2 (mutación hereditaria)
	TUM= 010	Cáncer metastásico en el contexto de una(s) mutación(es) heredada(s) de la vía BRCA/Fanconi
35	TUM= 011	Cáncer metastásico en el contexto de una mutación adquirida de células tumorales en la(s) mutación(es) de la vía BRCA/Fanconi
	TUM= 012	Cáncer pancreático relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria)
	TUM= 013	Cáncer de próstata relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria)
	TUM= 014	Cáncer de ovario relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria)
	TUM= 020	Cáncer de trompa de Falopio relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria)
40	TUM= 021	Cáncer de mama relacionado con BRCA2 (mutación hereditaria)
	TUM= 022	Cáncer pancreático relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria)
	TUM= 023	Cáncer de próstata relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria)
	TUM= 024	Cáncer de ovario relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria)
	TUM= 030	Cáncer de trompa de Falopio relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria)
45	TUM= 031	Cáncer de mama relacionado con BRCA1 (mutación hereditaria)
	TUM= 032	Cáncer pancreático relacionado con PALB2 (mutación hereditaria)
	TUM= 033	Cáncer de próstata relacionado con PALB2 (mutación hereditaria)
	TUM= 034	Cáncer de ovario relacionado con PALB2 (mutación hereditaria)
	TUM= 040	Cáncer de trompas de Falopio relacionado con PALB2 (mutación hereditaria)
50	TUM= 041	Cáncer de mama relacionado con PALB2 (mutación hereditaria)
	TUM= 042	Cáncer de mama (adenocarcinoma ductal)
	TUM= 043	Cáncer de mama relacionado con RAD50 (mutación hereditaria)
	TUM= 044	Cánceres que surgen en pacientes con una(s) mutación(es) de línea germinal heredada y/o una(s) mutación(es) somática(s) adquirida(s) en un(a) gen(es) implicado(s) en la reparación de la reticulación de ADN, recombinación homóloga o reparación de ADN.
55	TUM= 100	Cáncer de mama (adenocarcinoma lobular)
	TUM= 101	Cáncer de mama (sarcoma)
	TUM= 102	Cáncer de mama (triple negativo)
	TUM= 103	Cáncer de mama (inflamatorio)
60	TUM= 104	Cáncer de mama (de Paget)
	TUM= 110	Cáncer de próstata (adenocarcinoma)
	TUM= 111	Cáncer pancreático (adenocarcinoma, etapa I-IV)
	TUM= 112	Cáncer de ovario (seroso)
	TUM= 113	Cáncer de ovario (endometrioide)
65	TUM= 114	Cáncer de ovario (célula clara)
	TUM= 120	Cáncer de ovario (mucinoso)

	TUM= 121	Adenocarcinomas
	TUM= 122	Carcinoma de células basales
	TUM= 123	Cáncer de conducto biliar
	TUM= 124	Cáncer de vejiga
5	TUM= 130	Cáncer bronquial
	TUM= 131	Tumor carciñoide
	TUM= 132	Cáncer cervical (escamoso)
	TUM= 133	Cáncer de cuello uterino (adenocarcinoma)
	TUM= 134	Cáncer colorrectal
10	TUM= 140	Cáncer de colon
	TUM= 141	Cáncer duodenal
	TUM= 142	Cáncer endometrial
	TUM= 143	Cáncer endometrial endometroide
	TUM= 144	Cáncer de esófago
15	TUM= 200	Cáncer de esófago (células escamosas)
	TUM= 201	Cáncer de esófago (adenocarcinoma)
	TUM= 202	Sarcoma de Ewing
	TUM= 203	Cáncer de trompa de Falopio
	TUM= 204	Melanoma ocular
20	TUM= 210	Histiocitoma fibroso maligno de hueso
	TUM= 211	Osteosarcoma
	TUM= 212	Cáncer de vesícula biliar
	TUM= 213	Cáncer gástrico
	TUM= 214	Tumor carciñoide gastrointestinal
25	TUM= 220	Tumores estromales gastrointestinales (GIST)
	TUM= 221	Tumores de células germinales
	TUM= 222	Cáncer de cabeza y cuello
	TUM= 223	Cáncer hepatocelular
	TUM= 224	Cáncer hipofaríngeo
30	TUM= 230	Tumores malignos de células de los islotes
	TUM= 231	Tumores neuroendocrinos pancreáticos
	TUM= 232	Carcinoma de células renales
	TUM= 233	Cáncer laringeo
	TUM= 234	Cáncer de labios y cavidad oral
35	TUM= 240	Leiomiosarcomas
	TUM= 241	Linfoma
	TUM= 242	Leucemia
	TUM= 243	Leucemia de células T
	TUM= 244	Linfoma de células B
40	TUM= 300	Leucemia de células B
	TUM= 301	Leucemia mielógena aguda
	TUM= 302	Mieloma
	TUM= 303	Linfoma no Hodgkin
	TUM= 304	Cáncer de pulmón
45	TUM= 310	Cáncer de pulmón de células no pequeñas
	TUM= 311	Cáncer de pulmón de células pequeñas
	TUM= 312	Cáncer de pulmón (adenocarcinoma)
	TUM= 313	Cáncer de pulmón (célula grande)
	TUM= 314	Cáncer de pulmón (células escamosas)
50	TUM= 320	Melanoma
	TUM= 321	Carcinoma de células de Merkel
	TUM= 322	Mesotelioma
	TUM= 323	Cáncer de la cavidad nasal y los senos paranasales
	TUM= 324	Cáncer nasofaríngeo
55	TUM= 330	Cáncer neuroendocrino
	TUM= 331	Cáncer oral
	TUM= 332	Cáncer orofaríngeo
	TUM= 333	Tumores neuroendocrinos pancreáticos
	TUM= 334	Cáncer de los senos paranasales y de la cavidad nasal
60	TUM= 340	Cáncer de paratiroides
	TUM= 341	Cáncer de pene
	TUM= 342	Cáncer faríngeo
	TUM= 343	Feocromocitoma
	TUM= 344	Cáncer rectal
65	TUM= 400	Cáncer de células renales
	TUM= 401	Cáncer de células claras renales

	TUM= 402	Cáncer renal cromófobo
	TUM= 403	Cáncer renal papilar
	TUM= 404	Pelvis renal y uréter
	TUM= 410	Cáncer de células de transición
5	TUM= 411	Cáncer de glándula salival
	TUM= 412	Sarcomas
	TUM= 413	Carcinomas de células escamosas
	TUM= 414	Osteosarcoma
	TUM= 420	Rabdomiosarcoma
10	TUM= 421	Carcinoma de células de Merkel
	TUM= 422	Cáncer de intestino delgado
	TUM= 423	Sarcoma de tejido blando
	TUM= 424	Carcinoma de células escamosas
	TUM= 430	Cáncer escamoso de cuello con primario oculto
15	TUM= 431	Cáncer testicular
	TUM= 432	Cáncer de tiroides (papilar, folicular, medular y anaplásico)
	TUM= 433	Cáncer de células de transición de la pelvis renal y el uréter
	TUM= 434	Cáncer de uretra
20	TUM= 440	Cáncer de útero
	TUM= 441	Cáncer indiferenciado
	TUM= 442	Sarcoma uterino endometrial
	TUM= 443	Cáncer vaginal
	TUM= 444	Cáncer vulvar

25 Ejemplos de uso de la nomenclatura

- a) E2(12212012) se refiere a la modalidad E2, en la que ABCDFTUM=12212012, lo que significa A=1, B=2, C=2, D=1 y F=2, y TUM=012, lo que significa la modalidad de E2 en la que la dosis de melfalán (A=1) es de 50 a 75 mg/m², la dosis de BCNU (B=2) es de 125 a 200 mg/m², la dosis de etanol (C=2) es de 3 a 6 gramos/m², la dosis de hidroxocobalamina (D=1) es de 250 a 500 mg/m², la dosis de ácido ascórbico (F=2) es de 6 a 12 gramos/m², y el cáncer metastásico (TUM=012) es cáncer pancreático en el contexto de una mutación hereditaria de BRCA2.
- 30 b) E2S(12212012) se refiere a la modalidad anterior E2(12212012) en la que se infunden células madre.
- c) Ee2(12222013) se refiere a la modalidad Ee2, en la que ABCDFTUM=12222013, lo que significa A=1, B=2, C=2, D=2 y F=2, y TUM=013, lo que significa la modalidad de Ee2 en la que la dosis de melfalán (A=1) es de 50 a 75 mg/m², la dosis de BCNU (B=2) es de 125 a 200 mg/m², la dosis de etanol (C=2) es de 3 a 6 gramos/m², la dosis de hidroxocobalamina (D=2) es de 0,5 a 1,5 gramos/m², la dosis de ácido ascórbico (F=2) es de 6 a 12 gramos/m², y el cáncer metastásico (TUM=013) es cáncer de próstata en el contexto de una mutación hereditaria de BRCA2.
- 35 d) Ee2S(12222013) se refiere a la modalidad anterior Ee2(12222013) en la que se infunden células madre.

40 Modalidades adicionales de E2 y E2S

Mediante el uso de la nomenclatura anterior, algunas modalidades adicionales de E2 y E2S son E2(ABCDFTUM) y E2S(ABCDFTUM) donde ABCDFTUM = 00000000, 00000001, 00000002, 00000003, 00000004, 00000010, 00000011, 00000012, ..., 44444444. Para ahorrar espacio, se usa la elipsis para representar todos los números que intervienen en la secuencia. En otras palabras, ABCDFTUM = 00000000 a 44444444 secuencialmente en base 5. Por lo tanto, una lista de algunas modalidades de E2 es: E2(00000000), E2(00000001), E2(00000002), E2(00000003), E2(00000004), E2(00000010), E2(00000011), E2(00000012), E2(00000013), E2(00000014), E2(00000020), ..., E2(44444444). De manera similar, una lista de algunas modalidades de E2S es E2S(00000000), E2S(00000001), E2S(00000002), E2S(00000003), E2S(00000004), E2S(00000010), E2S(00000011), E2S(00000012), E2S(00000013), E2S(00000014), E2S(00000020), ..., E2S(44444444).

Modalidades adicionales de Ee2 y Ee2S

Una lista de algunas modalidades de Ee2 es: Ee2(00000000), Ee2(00000001), Ee2(00000002), Ee2(00000003), Ee2(00000004), Ee2(00000010), Ee2(00000011), Ee2(00000012), Ee2(00000013), Ee2(00000014), Ee2(00000020), ..., Ee2(44444444). Una lista de algunas modalidades de Ee2S es: Ee2S(00000000), Ee2S(00000001), Ee2S(00000002), Ee2S(00000003), Ee2S(00000004), Ee2S(00000010), Ee2S(00000011), Ee2S(00000012), Ee2S(00000013), Ee2S(00000014), Ee2S(00000020), ..., Ee2S(44444444).

60 Modalidad E3 (tratamiento)

E3 es un método para el tratamiento del cáncer metastásico en un sujeto, que comprende administrar una combinación de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas, y administrar opcionalmente etanol y administrar opcionalmente células madre.

65 Modalidad Ee3 (tratamiento)

Ee3 es un conjunto de fármacos o kit que comprende 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, para su uso en un régimen para el tratamiento del cáncer metastásico; en donde el régimen comprende administrar los fármacos simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas, y opcionalmente administrar etanol y opcionalmente administrar células madre.

5

Modalidades adicionales de E3, E3S, Ee3 y Ee3S

Una lista de algunas modalidades de E3 es: E3(00000000), E3(00000001), E3(00000002), E3(00000003), E3(00000004), E3(00000010), E3(00000011), E3(00000012), E3(00000013), E3(00000014), E3(00000020), ... , E3(44444444). Una lista de algunas modalidades de E3S es: E3S(00000000), E3S(00000001), E3S(00000002), E3S(00000003), E3S(00000004), E3S(00000010), E3S(00000011), E3S(00000012), E3S(00000013), E3S(00000014), E3S(00000020), ... , E3S(44444444). Una lista de algunas modalidades de Ee3 es: Ee3(00000000), Ee3(00000001), Ee3(00000002), Ee3(00000003), Ee3(00000004), Ee3(00000010), Ee3(00000011), Ee3(00000012), Ee3(00000013), Ee3(00000014), Ee3(00000020), ... , Ee3(44444444). Una lista de algunas modalidades de Ee3S es: Ee3S(00000000), Ee3S(00000001), Ee3S(00000002), Ee3S(00000003), Ee3S(00000004), Ee3S(00000010), Ee3S(00000011), Ee3S(00000012), Ee3S(00000013), Ee3S(00000014), Ee3S(00000020), ... , Ee3S(44444444).

Modalidad E4 (tratamiento efectivo)

20 E4 es un método para el tratamiento efectivo del cáncer metastásico en un sujeto, que comprende administrar una combinación de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas, y administrar opcionalmente etanol y opcionalmente administrar células madre.

25

Modalidad Ee4 (tratamiento efectivo)

30 Ee4 es un conjunto de fármacos o kit que comprende 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, para su uso en un régimen para el tratamiento efectivo del cáncer metastásico; en donde el régimen comprende administrar los fármacos simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas, y opcionalmente administrar etanol y opcionalmente administrar células madre.

Modalidades adicionales de E4, E4S, Ee4 y Ee4S

35 Una lista de algunas modalidades de E4 es: E4(00000000), E4(00000001), E4(00000002), E4(00000003), E4(00000004), E4(00000010), E4(00000011), E4(00000012), E4(00000013), E4(00000014), E4(00000020), ... , E4(44444444). Una lista de algunas modalidades de E4S es: E4S(00000000), E4S(00000001), E4S(00000002), E4S(00000003), E4S(00000004), E4S(00000010), E4S(00000011), E4S(00000012), E4S(00000013), E4S(00000014), E4S(00000020), ... , E4S(44444444). Una lista de algunas modalidades de Ee4 es: Ee4(00000000), Ee4(00000001), Ee4(00000002), Ee4(00000003), Ee4(00000004), Ee4(00000010), Ee4(00000011), Ee4(00000012), Ee4(00000013), Ee4(00000014), Ee4(00000020), ... , Ee4(44444444). Una lista de algunas modalidades de Ee4S es: Ee4S(00000000), Ee4S(00000001), Ee4S(00000002), Ee4S(00000003), Ee4S(00000004), Ee4S(00000010), Ee4S(00000011), Ee4S(00000012), Ee4S(00000013), Ee4S(00000014), Ee4S(00000020), ... , Ee4S(44444444).

Modalidad E5 (tratamiento efectivo, cánceres metastásicos refractarios)

45

E5 es un método para el tratamiento efectivo del cáncer metastásico refractario en un sujeto, que comprende administrar una combinación de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas, y administrar opcionalmente etanol y opcionalmente administrar células madre.

50

Modalidad Ee5 (tratamiento efectivo, cáncer metastásico refractario)

55 Ee5 es un conjunto de fármacos o kit que comprende 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, para su uso en un régimen para el tratamiento efectivo del cáncer metastásico refractario; en donde el régimen comprende administrar los fármacos simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas, y opcionalmente administrar etanol y opcionalmente administrar células madre.

Modalidades adicionales de E5, ESS, Ee5 y Ee5S

60 Una lista de algunas modalidades de E5 es: E5(00000000), E5(00000001), E5(00000002), E5(00000003), E5(00000004), E5(00000010), E5(00000011), E5(00000012), E5(00000013), E5(00000014), E5(00000020), ... , E5(44444444). Una lista de algunas modalidades de E5S es: E5S(00000000), E5S(00000001), E5S(00000002), E5S(00000003), E5S(00000004), E5S(00000010), E5S(00000011), E5S(00000012), E5S(00000013), E5S(00000014), E5S(00000020), ... , E5S(44444444). Una lista de algunas modalidades de Ee5 es: Ee5(00000000), Ee5(00000001), Ee5(00000002), Ee5(00000003), Ee5(00000004), Ee5(00000010), Ee5(00000011), Ee5(00000012), Ee5(00000013), Ee5(00000014), Ee5(00000020), ... , Ee5(44444444). Una lista de algunas modalidades de Ee5S es:

Ee5S(00000000), Ee5S(00000001), Ee5S(00000002), Ee5S(00000003), Ee5S(00000004), Ee5S(00000010), Ee5S(00000011), Ee5S(00000012), Ee5S(00000013), Ee5S(00000014), Ee5S(00000020), ..., Ee5S(44444444).

Algunas modalidades preferidas de E2-E5 y Ee2-Ee5

- 5 En algunas modalidades preferidas de E2S y Ee2S, y E3S y Ee3S, y E4S y Ee4S, y E5S y Ee5S, las dosis de fármacos son como se indica más abajo:
- 10 i. Melfalán 75 a 100 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 3 a 6 gramos/m².
ii. Melfalán 75 a 100 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 6 a 12 gramos/m².
iii. Melfalán 75 a 100 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 12 a 25 gramos/m².
- 15 iv. Melfalán 75 a 100 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 3 a 6 gramos/m².
v. melfalán 75 a 100 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 6 a 12 gramos/m².
vi. Melfalán 75 a 100 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 12 a 25 gramos/m².
- 20 vii. Melfalán 50 a 75 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 3 a 6 gramos/m².
viii. Melfalán 50 a 75 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 6 a 12 gramos/m².
- 25 ix. Melfalán 50 a 75 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 12 a 25 gramos/m².
x. Melfalán 50 a 75 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 3 a 6 gramos/m².
xi. Melfalán 50 a 75 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 6 a 12 gramos/m².
- 30 xii. Melfalán 50 a 75 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 12 a 25 gramos/m².
xiii. Melfalán 100 a 150 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 3 a 6 gramos/m².
- 35 xiv. Melfalán 100 a 150 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 6 a 12 gramos/m².
xv. Melfalán 100 a 150 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 12 a 25 gramos/m².
- 40 xvii. Melfalán 100 a 150 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 6 a 12 gramos/m².
xviii. Melfalán 100 a 150 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 12 a 25 gramos/m².
- 45 xvix. Melfalán 150 a 200 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 3 a 6 gramos/m².
xx. Melfalán 150 a 200 mg/m², BCNU 125 a 200 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 6 a 12 gramos/m².
- 50 xxii. Melfalán 150 a 200 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 3 a 6 gramos/m².
xxiii. Melfalán 150 a 200 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 6 a 12 gramos/m².
- 55 xxiv. Melfalán 150 a 200 mg/m², BCNU 75 a 125 mg/m², etanol 3 a 6 gramos/m², hidroxocobalamina 0,5 a 1,5 gramos/m² y ácido ascórbico 12 a 25 gramos/m².

En algunas modalidades preferidas de las modalidades anteriores, el cáncer es pancreático, de mama, de ovario o de próstata. En algunas modalidades preferidas de las modalidades anteriores, el cáncer está en un sujeto con una mutación hereditaria de BRCA1 y/o BRCA2.

60 Modalidad E6

65 E6 es un método para el tratamiento del cáncer metastásico o cáncer metastásico refractario en un sujeto, que comprende administrar una combinación de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido

ascórbico, simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas; en donde la dosis de melfalán está en el intervalo de 20 a 200 mg/m².

5 En una modalidad preferida de E6, se administra 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea a una dosis en un intervalo de 50 a 400 mg/m²; el melfalán se administra a una dosis de 20 a 200 mg/m²; la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 25 a 20 000 mg/m²; y el ácido ascórbico se administra a una dosis de 1 gramo a 150 gramos.

10 En una modalidad preferida de E6, la 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea se administra en un intervalo de dosis de 75 a 300 mg/m²; el melfalán se administra en una dosis de 50 a 200 mg/m²; la hidroxocobalamina se administra en una dosis de 400 a 800 mg/m²; y el ácido ascórbico se administra en una dosis de 5 gramos a 40 gramos.

15 En una modalidad preferida de E6, la 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea se administra a una dosis de 150 mg/m²; el melfalán se administra a una dosis de 70-140 mg/m²; la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 580 mg/m²; y el ácido ascórbico se administra a una dosis de 5 gramos a 25 gramos.

20 En las modalidades preferidas de las modalidades E6 anteriores, los métodos comprenden además administrar etanol sistémicamente a una dosis de 500 mg a 40 gramos.

25 En las modalidades preferidas de las modalidades E6 anteriores, los métodos comprenden además la terapia de trasplante de células madre de médula ósea.

En las modalidades preferidas de las modalidades E6 anteriores, los métodos son para el tratamiento del cáncer metastásico en un sujeto con una mutación de línea germinal heredada en un gen involucrado en la reparación del ADN, y/o la recombinación homóloga, y/o la reparación de la reticulación de ADN.

30 En las modalidades preferidas de las modalidades E6 anteriores, los métodos son para el tratamiento del cáncer metastásico en un sujeto con una mutación de línea germinal heredada en uno o más de los siguientes genes: ATR, BARD1, BLM, BRCA1, BRCA2, BRIP1 (FANCJ, BACH1), EME1, ERCC1, ERCC4, FAN1, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCJ, FANCL, FANCM, FANCO, FANCP, FANCQ, FANCR, FANCS, FANCT, HELQ, MEN1, MUS81, NBN (NBS1), PALB2, RAD50, RAD51 (FANCR), RAD51C (FANCO), RAD51D, REV1, SLX4 (FANCP), UBE2T (FANCT), USP1, WDR48, XPF, XRCC2 y XRCC3.

35 En las modalidades preferidas de las modalidades E6 anteriores, los métodos son para el tratamiento del cáncer metastásico en un sujeto con una mutación de línea germinal heredada en BRCA1 y/o BRCA2.

40 Modalidad E8

E8 es un método para tratar el cáncer que comprende la administración de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, hidroxocobalamina y ácido ascórbico.

45 Modalidad E10

La modalidad E10 es un conjunto o kit de composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento efectivo del cáncer metastásico o cáncer metastásico refractario en un sujeto, que comprende una dosis terapéuticamente efectiva de una combinación de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico.

50 Modalidad E1 1

La modalidad E11 comprende el uso de una composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer metastásico o cáncer metastásico refractario en un sujeto, que comprende una dosis terapéuticamente efectiva de una combinación de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, en donde la dosis de melfalán está en el intervalo de 20 a 200 mg/m².

Formas alternativas de los principios activos

60 Se apreciará que en los métodos y composiciones descritos en la presente descripción, puede usarse cualquier forma adecuada de los principios activos (por ejemplo, fármacos), por ejemplo, una forma de sal, o un profármaco o metabolito activo; estas formas están dentro del alcance de la presente invención.

Formulaciones de melfalán

65 Una formulación de melfalán preferida comprende clorhidrato de melfalán equivalente a 5 mg/ml de melfalán, 2 mg/ml de povidona, 20 mg/ml de citrato de sodio, 6,0 ml de propilenglicol, 0,52 ml de etanol al 96 % y agua para dar un

volumen de 10 ml, que luego se diluye con cloruro de sodio al 0,9 % para inyección intravenosa, USP, para dar una concentración de melfalán no mayor que 0,45 mg/ml.

Formulación de BCNU

- 5 Una formulación de BCNU preferida comprende 100 mg de BCNU disuelto en 3 ml de etanol al 96 % y 27 ml de Agua para Inyección Intravenosa, USP, que se diluye además con 0,9 % de Inyección de Cloruro de Sodio, USP a una concentración de BCNU de aproximadamente 0,6 mg/ml.
- 10 Formulación de hidroxocobalamina
Una formulación preferida comprende hidroxocobalamina disuelta en cloruro de sodio al 0,9 % para inyección intravenosa, USP a una concentración de no más de 25 mg/ml.
- 15 Formulaciones de ácido ascórbico
Una formulación preferente de ácido ascórbico comprende ácido ascórbico y una cantidad equimolar de hidróxido de sodio con el pH ajustado a aproximadamente 5 a 7 (con hidróxido de sodio o bicarbonato de sodio), que se diluye en Agua para Inyección Intravenosa, USP, para dar una concentración final de 25 mg/ml de ácido ascórbico, que es isotónico con una osmolaridad de ~ 280 mOsm/l. En otras formulaciones preferidas, la solución puede ser más concentrada con la concentración de ácido ascórbico que varía hasta 80 mg/ml. Las soluciones hipertónicas deben administrarse por una línea IV central.
- 20 Formulación, técnicas de administración y formas de dosificación
En ciertas modalidades, las composiciones farmacéuticas que se describen en la presente descripción se formulan como una forma adecuada para la administración oral, como un comprimido, como una cápsula, como un gránulo, como una píldora, como un caramelo, como un polvo o como un gránulo. En algunas modalidades de la presente invención, las composiciones farmacéuticas se formulan como formulaciones, soluciones, líquidos o suspensiones de liberación sostenida; para inyección parenteral como una solución, suspensión o emulsión estéril; para la administración tópica como un ungüento, crema, loción, aerosol, espuma, gel o pasta; o para la administración rectal o vaginal como un supositorio o pesario. En ciertas modalidades, las composiciones farmacéuticas se formulan en formas de unidad de dosificación adecuadas para la administración única de dosis precisas. En ciertos aspectos, la composición farmacéutica incluye un portador o excipiente farmacéutico convencional y un agente como se describe en la presente descripción como un ingrediente activo. Además, se incluyen otros agentes medicinales o farmacéuticos, portadores, adyuvantes, etc. Las formas de administración parenteral ilustrativas incluyen soluciones o suspensiones de agentes activos en soluciones acuosas estériles, por ejemplo, soluciones acuosas de propilenglicol o dextrosa. Dichas formas de dosificación se tamponan opcionalmente.
- 25 Los portadores farmacéuticos adecuados incluyen diluyentes o rellenos inertes, agua y varios solventes orgánicos. Las composiciones farmacéuticas contienen opcionalmente ingredientes adicionales tales como saborizantes, aglutinantes, excipientes y similares. Por ejemplo, en una modalidad específica, se emplean comprimidos que contienen varios excipientes, tales como ácido cítrico, junto con varios desintegrantes. Adicionalmente, se usan opcionalmente agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio y talco. También se añaden opcionalmente otros reactivos tales como un inhibidor, surfactante o solubilizante, plastificante, estabilizador, agente de aumento de viscosidad o agente formador de película. En ciertas modalidades, se emplean composiciones sólidas de un tipo similar en cápsulas de gelatina blandas o duras llenas. En ciertas modalidades, las composiciones farmacéuticas y/o formulaciones que se describen en la presente descripción incluyen lactosa o azúcar de leche o polietilenglicos de alto peso molecular. Cuando se desean suspensiones acuosas o elixires para la administración oral, el ingrediente o los ingredientes activos se combinan opcionalmente con varios agentes de endulzamiento o saborizantes, agentes de coloración o tintes o, agentes emulsionantes o agentes de suspensión, junto con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol, glicerina o sus combinaciones. Los expertos en la técnica conocen las formulaciones y las técnicas de administración que se pueden emplear con los agentes y los métodos de la invención, por ejemplo, como se discute en Goodman y Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics (edición actual), McGraw-Hill; y Remington's, Pharmaceutical Sciences (edición actual), Mack Publishing Co., Easton, Pa. Las formulaciones para la administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas (oleosas) de los agentes activos, que pueden contener antioxidantes, tampones, biocidas, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del destinatario previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que incluyen opcionalmente agentes de suspensión o agentes espesantes. Ejemplos de vehículos isotónicos adecuados para su uso en tales formulaciones incluyen inyección de cloruro de sodio, solución de Ringer o inyección de Ringer lactato. Los solventes o vehículos lipofílicos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato de etilo o triglicéridos; o los liposomas u otros sistemas microparticulados pueden usarse para dirigir el agente a los componentes sanguíneos o a uno o más órganos. La concentración del ingrediente o ingredientes activos en la solución varía en dependencia del uso previsto.
- 30 35 40 45 50 55 60 65 Los ejemplos no limitativos de excipientes que se usan junto con la presente invención incluyen agua, solución salina, dextrosa, glicerol o etanol. Las composiciones inyectables comprenden opcionalmente cantidades menores de

sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tampones de pH, estabilizadores, potenciadores de solubilidad u otros agentes tales como acetato de sodio, monoleato de sorbitán, oleato de trietanolamina o ciclodextrinas. Los fármacos que tienen grupos ácidos o básicos pueden administrarse en formulaciones como sales farmacológicamente aceptables; por ejemplo, el melfalán puede administrarse como clorhidrato de melfalán, y el ácido ascórbico puede administrarse como ascorbato de sodio. Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables que se usan opcionalmente incluyen vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, tampones, antioxidantes, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersión, agentes emulsionantes, agentes secuestrantes o quelantes, y otras sustancias farmacéuticamente aceptables.

10 **Agentes terapéuticos adicionales**

Los métodos y composiciones descritos en la presente descripción también pueden incluir además agentes y fármacos terapéuticos adicionales para el tratamiento del cáncer o para aliviar los síntomas.

15 **Fármacos antieméticos**

Las combinaciones de fármacos empleados en los métodos presentes tienen un alto potencial para causar náuseas y emesis. Un experto en la técnica conoce los métodos efectivos para controlar estos efectos secundarios y se emplearían junto con los métodos actuales. Generalmente, los pacientes se tratarían previamente con dexametasona y un antagonista de la serotonina. Los protocolos adecuados se conocen por un experto en la técnica. Las siguientes referencias se relacionan con este asunto: Actualización de las directrices de MASCC y ESMO en la prevención de la náusea y el vómito inducidos por quimioterapia y radioterapia: resultados de la conferencia de consenso de Perugia. Roila F; y otros; ESMO/MASCC Guidelines Working Group, Ann Oncol., mayo de 2010, 21 Supl 5: v232-43.

25 **Ejemplos**

Ejemplo 1

30 Un paciente con cáncer pancreático metastásico con una mutación hereditaria de BRCA2 se trataría con el siguiente protocolo:

1. El paciente se sometería a un cribado para descartar afecciones médicas subyacentes que impedirían el tratamiento y la terapia de células madre; tales afecciones incluirían enfermedades infecciosas graves o del corazón, riñón, hígado, metabólicas, neurológicas, hematológicas o pulmonares. Además, se examinaría al paciente para detectar contraindicaciones de fármacos que impedirían el tratamiento y la terapia de células madre.

Movilización, recolección, purificación y almacenamiento de células madre:

- 40 2. Tratamiento con Neupogen 10 microgramos/kg subcutáneamente diariamente cada mañana durante al menos 4 días antes del inicio planificado de la aféresis y diariamente mientras se somete a la aféresis. Las técnicas para usar Neupogen se describen en la etiqueta del envase aprobada por la FDA.
- 35 3. Se recolectarían suficientes células CD34+ mediante aféresis para 2-3 infusiones de células madre y una reserva (es decir, más de $\sim 2 \times 10^6$ células/kg/infusión).
- 45 4. Si fuera necesario, el Plerixafor podría usarse para aumentar la movilización y el rendimiento de las células madre. Las técnicas para usar este fármaco se describen en el envase aprobado por la FDA del Plerixafor.
- 50 5. Las células madre CD34+ se purificarían mediante el uso de CliniMacs™ la tecnología y almacenada congelada hasta su uso.

55 **Tratamiento farmacológico: (día menos 2)**

- 60 6. Hidratación IV y premedicación antiemética antes de la quimioterapia
7. Dexametasona, 12 mg IV, 30 minutos antes de la quimioterapia
8. Palonosetrón (Aloxi) 0,25 mg IV, 30 minutos antes de la quimioterapia
9. Aprepitant (EMEND) 125 mg por vía oral, 1 hora antes de la quimioterapia
10. Melfalán: 90 mg/m² IV durante 15 minutos mediante una línea central que comienza a t=0 minutos
11. BCNU 150 mg/m² IV y etanol 3,5 gramos/m² durante 50 minutos, que comienza a t = 15 minutos mediante una línea central
12. Hidroxocobalamina, 525 mg/m² IV durante 15 minutos, inmediatamente después de la finalización de la infusión de BCNU
13. Ácido ascórbico: 5800 mg/m² durante 30 minutos que comienza a t = 70 minutos
14. Hidratación IV durante 24 horas, aproximadamente 2 a 3 litros/m²/día

65 **Día antes de la infusión de células madre: (día menos 1)**

15. Dexametasona 8 mg PO

16. Aprepitant 80 mg PO

Infusión de células madre: (día 0)

- 5 17. Dexametasona 8 mg PO
18. Aprepitant 80 mg PO
19. Infusión de células madre, al menos 2 x 10⁶ células CD34+/kg IV por línea central

Cuidados de apoyo:

- 10 20. Pegfilgrastim 6 mg subcutáneo, día +2
21. Terapia de apoyo convencional posterior al trasplante de células madre, según sea necesario, que incluye transfusión de plaquetas, transfusión de RBC y antibióticos profilácticos (por ejemplo, Cipro), aciclovir profiláctico y otros cuidados de apoyo.

15 Próximo ciclo de tratamiento:

20 22. Repita las etapas 6-21 en aproximadamente 4-8 semanas para un total de 2-3 ciclos de melfalán, BCNU, etanol, hidroxocobalamina, ácido ascórbico y infusiones de células madre.

25 Ejemplo 2

En el ejemplo 2, el tratamiento es como se describe en el Ejemplo 1, sin embargo el melfalán se administra a una dosis de 70 mg/m² y la dosis de ácido ascórbico es de 11 600 mg/m² durante 45 minutos.

30 Ejemplo 3

En el ejemplo 3, el tratamiento es como se describe en el Ejemplo 1, el paciente tiene cáncer de próstata metastásico en el contexto de una mutación hereditaria de BRCA2. Sin embargo, el melfalán se administra a una dosis de 110 mg/m².

35 Ejemplo 4

En el ejemplo 3, el tratamiento es como se describe en el Ejemplo 1. Sin embargo, la dosis de BCNU se administra a una dosis de 100 mg/m².

40 Ejemplo 5

En el ejemplo 5, el tratamiento es como se describe en el Ejemplo 1. Sin embargo, el paciente tiene cáncer pancreático y no tiene una mutación de BRCA.

45 Los mismos métodos en los ejemplos anteriores podrían usarse para pacientes con una amplia gama de cánceres metastásicos relacionados con BRCA y BRCA independientes, que incluyen, entre otros, cáncer pancreático, cáncer de próstata, cáncer de mama de etapa IV, cáncer de ovario resistente al platino y otros tipos de cánceres que se dan en la Lista A en esta solicitud.

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en un método para el tratamiento del cáncer metastásico o cáncer metastásico refractario en un sujeto, que comprende administrar una combinación de
 - (a) 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea,
 - (b) melfalán,
 - (c) hidroxocobalamina, y
 - (d) ácido ascórbico,

o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores, y administrar opcionalmente

 - (e) etanol y/o
 - (f) células madre de médula ósea,

en donde el melfalán, 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores, se administran simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas; en donde la dosis de melfalán está en el intervalo de 20 mg/m² a 200 mg/m².
2. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea se administra en un intervalo de dosis de 50 mg/m² a 400 mg/m²; la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 25 mg/m² a 20 000 mg/m², y el ácido ascórbico se administra a una dosis de 1 gramo a 150 gramos.
3. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico, o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el melfalán se administra a una dosis de 90 mg/m².
4. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea se administra a una dosis de 150 mg/m².
5. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 1,5 g/m².
6. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el ácido ascórbico se administra por vía intravenosa a una dosis de 1 g/m² a 12 g/m².
7. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico, o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método comprende además la terapia de trasplante de células madre de médula ósea.
8. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico, o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método comprende además la administración sistémica de etanol a una dosis de 500 mg a 40 gramos.
9. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico, o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el cáncer metastásico está en un sujeto con una mutación de línea germinal heredada en un gen involucrado en la reparación del ADN, y/o la recombinación homóloga, y/o la reparación de la reticulación de ADN.
10. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el cáncer metastásico está en un sujeto con una mutación de línea germinal heredada en uno o más de los siguientes genes: ATR, BARD1, BLM, BRCA1, BRCA2, BRIP1 (FANCJ, BACH1), EME1, ERCC1, ERCC4, FAN1, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCJ, FANCL, FANCM, FANCN, FANCO, FANCP, FANCQ, FANCQ, FANCR, FANCS, FANCT, HELQ, MEN1, MUS81, NBN (NBS1), PALB2, RAD50, RAD51 (FANCR), RAD51C (FANCO), RAD51D, REV1, SLX4 (FANCP), UBE2T (FANCT), USP1, WDR48, XPF, XRCC2 y XRCC3.

11. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico, o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el cáncer metastásico está en un sujeto con una mutación de línea germinal heredada en BRCA1 y/o BRCA2.
- 5 12. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico, o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el cáncer metastásico se selecciona de cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer de mama y cáncer de próstata.
- 10 13. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en un método para tratar el cáncer que comprende la administración de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.
- 15 14. Un kit de composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento del cáncer metastásico o cáncer metastásico refractario en un sujeto, dicho kit comprende una dosis terapéuticamente efectiva de una combinación de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.
- 20 15. Un kit que comprende
- (a) 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea,
(b) melfalán,
25 (c) hidroxocobalamina, y
(d) ácido ascórbico y, opcionalmente
(e) etanol
- 30 o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de melfalán, 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, para su uso en un método para tratar el cáncer metastásico o el cáncer metastásico refractario en un sujeto, que comprende administrar una combinación de 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores, en donde la administración es simultáneamente o dentro de un período de tiempo de seis horas, y opcionalmente administrar etanol.
- 35 16. El kit de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea se administra a una dosis de 50 mg/m² a 400 mg/m²; el melfalán se administra a una dosis de 20 mg/m² a 200 mg/m²; la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 25 mg/m² a 20 000 mg/m², y el ácido ascórbico se administra a una dosis de 1 gramo a 150 gramos.
- 40 17. El kit de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea se administra a una dosis de 150 mg/m².
- 45 18. El kit de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el melfalán se administra a una dosis de 90 mg/m².
19. El kit de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 1,5 g/m².
- 50 20. El kit de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el ácido ascórbico se administra por vía intravenosa a una dosis de 1 g/m² a 12 g/m².
21. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 0,5 g/m² a 1,5 g/m².
- 55 22. 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 1,5 g/m² a 5 g/m².
- 60 23. El kit de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 0,5 g/m² a 1,5 g/m².
24. El kit de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la hidroxocobalamina se administra a una dosis de 1,5 g/m² a 5 g/m².

25. Una combinación de 1,3-Bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, melfalán, hidroxocobalamina, ácido ascórbico o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, 21 y 22.
- 5 26. 1,3-bis(2-cloroethyl)-1-nitrosourea, hidroxocobalamina y ácido ascórbico, o sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 13.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65