



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

(21) BR 112020003585-8 A2



\* B R 1 1 2 0 2 0 0 3 5 8 5 A 2 \*

(22) Data do Depósito: 05/01/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 01/09/2020

(54) Título: COMPOSIÇÃO PARA USO NO TRATAMENTO, PREVENÇÃO OU RETARDAMENTO DA PROGRESSÃO DE TUMORES SÓLIDOS QUE INCLUEM CÂNCER EM UM SER HUMANO

(51) Int. Cl.: A61K 39/00; A61K 31/4745; A61K 31/513; A61K 31/519; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 24/08/2017 EP 17187684.0.

(71) Depositante(es): ISOFOL MEDICAL AB.

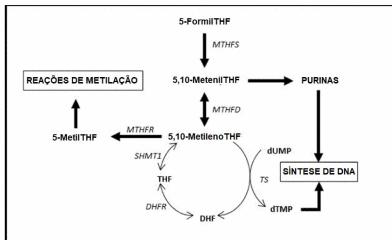
(72) Inventor(es): PER LENNART LINDBERG; GUNNEL ELISABETH SUNDÉN; BENGT GUSTAVSSON; ANDERS VEDIN.

(86) Pedido PCT: PCT EP2018050273 de 05/01/2018

(87) Publicação PCT: WO 2019/037898 de 28/02/2019

(85) Data da Fase Nacional: 20/02/2020

(57) Resumo: A presente invenção refere-se ao tratamento de tumores sólidos em seres humanos, tal como câncer, especialmente câncer colorretal (CRC), que envolve administrar o adjuvante de folato diastereoisomericamente puro [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato em quimioterapia à base de 5-fluorouracila (5-FU).



COMPOSIÇÃO PARA USO NO TRATAMENTO, PREVENÇÃO OU RETARDAMENTO DA PROGRESSÃO DE TUMORES SÓLIDOS QUE INCLUEM CÂNCER EM UM SER HUMANO

[001] A presente invenção se refere ao tratamento de tumores sólidos em seres humanos, tal como câncer, que envolve [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato ([6R]-MTHF) em quimioterapia à base de 5-fluorouracila (5-FU).

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[002] 5-fluorouracila (5-FU) foi introduzida primeiro em 1957, e ainda permanece como uma parte essencial do tratamento de uma ampla faixa de tumores sólidos, tais como tumores de mama, tumores de cabeça e pescoço, e tumores gastrointestinais.

[003] 5-FU é um exemplo de um agente anticâncer racionalmente projetado. Observações sobre a utilização de uracila em tumores de fígado de rato indicaram que a utilização dessa nucleobase (há quatro nucleobases no ácido nucleico de RNA) [Berg JM; Tymoczko JL; Stryer L (2002). Biochemistry (5<sup>a</sup> edição), WH Freeman and Company. Páginas 118 a 19, 781 a 808. ISBN 0-7167-4684-0. OCLC 179705944] foi mais pronunciada nos tumores do que em tecido não maligno. Isso implicou que as trajetórias enzimáticas para utilização de uracila se diferem entre células malignas e normais [Rutman RJ et al. Studies in 2-acetylaminofluorene carcinogenesis. III. The utilization of uracil 2-<sup>14</sup>C by preneoplastic rat liver and rat hepatoma. Cancer Res 1954; 14: 119 a 123]. 5-FU foi então sintetizada como um agente antimetabólico [Heidelberger C et al. Fluorinated pyrimidines, a new class of tumor-inhibitory compounds. Nature 1967; 179: 663 a 666]. Em 5-FU, o átomo de hidrogênio na posição 5 da uracila é substituído pelo átomo de flúor de

tamanho similar, e 5-FU foi projetado para ocupar os sítios ativos de enzimas, que bloqueia o metabolismo de células malignas.

[004] A taxa de resposta geral de 5-FU sozinha é bem limitada, que alcança níveis de 10 a 15% [Johnston P.G., Kaye S. Capcetabine; a novel agent for the treatment of solid tumors. *Anticancer Drugs* 2001, 12: 639 a 646] e estratégias de modulação para aumentar a atividade anticâncer de 5-FU foram desenvolvidas. Uma das estratégias mais amplamente usadas é uma coadministração de Leucovorina, o sal de cálcio de ácido folínico. Leucovorina (LV) atua como um estabilizador do complexo ternário, uma estrutura formada por <sup>1)</sup> 5,10-metileno-tetra-hidrofolato, o metabólito ativo de LV, de <sup>2)</sup> FdUMP, o metabólito ativo de 5-FU e de <sup>3)</sup> Timidilato sintase. Esse complexo ternário inibe a enzima timidilato sintase, uma enzima necessária para síntese de DNA [Longley D.B. et al. 5-Fluorouracil. Mechanisms of action and clinical strategies, *Nat Rev Cancer*. maio de 2003;3(5):330 a 8. Review]. Adicionando-se LV à 5-FU as taxas de resposta gerais aumentaram mais de 20% [Longley D.B. et al. 2003 *ibid.*].

[005] Câncer de mama é o câncer mais frequentemente diagnosticado e a principal causa de morte relacionada a câncer entre mulheres em todo o mundo<sup>1</sup>. Apesar dos ganhos na detecção precoce, até cinco por cento das mulheres diagnosticadas com câncer de mama nos Estados Unidos têm doença metastática no momento da primeira apresentação. Adicionalmente, até 30 por cento das mulheres com câncer de mama não metastático de estágio precoce em diagnóstico desenvolverão doença

---

<sup>1</sup> Breast Cancer, <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/world/breast-cancer-world/>

metastática distante [Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. Lancet 2005; 365:1.687]. Embora câncer de mama metastático não seja curável, melhoramentos significativos em sobrevivência foram vistos, coincidentemente com a introdução de terapias sistêmicas mais novas, consultar [Chia S.K., Speers C.H., D'yachkova Y. et al. The impact of new chemotherapeutic and hormone agents on survival in a population-based cohort of women with metastatic breast cancer. Cancer 2007; 110:973] e [Gennari A., Conte P., Rosso R. et al. Survival of metastatic breast carcinoma patients over a 20-year period: a retrospective analysis based on individual patient data from six consecutive studies. Cancer 2005; 104:1742] e [Dafni U., Grimani I., Xyrafas A. et al. Fifteen-year trends in metastatic breast cancer survival in Greece. Breast Cancer Res Treat 2010; 119:621].

[006] Os objetivos do tratamento de câncer de mama metastático são para prolongar sobrevivência e melhorar a qualidade de vida reduzindo-se os sintomas relacionados ao câncer. Quimioterapia citotóxica (que inclui o uso de 5-FU) é particularmente usada em pacientes com pacientes com receptor de hormônio negativo, pacientes com receptor de hormônio sintomático e uma progressão de doença rápida ou uma grande carga tumoral que envolve órgãos viscerais [Wilcken N., Hornbuckle J., Ghersi D.; Chemotherapy alone versus endocrine therapy alone for metastatic breast cancer. Cochrane Database Syst Rev 2003; :CD002747]. 5-FU é normalmente combinada com ciclofosfamida e metotrexato (CMF). A taxa de resposta é de

cerca de 20% e o OS de cerca de 20 meses [Stockler M.R., Harvey V.J., Francis P.A. et al. Capecitabine versus classical cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil as first-line chemotherapy for advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29:4.498].

[007] 5-FU também é usada para o tratamento de câncer de célula escamosa do pescoço e cabeça recorrente e avançado. O prognóstico nesse grupo de pacientes é geralmente pobre com um tempo de sobrevivência mediano na maioria dos estudos de 6 a 9 meses. 5-FU é principalmente usada em terapias de combinação com compostos de platina. Taxas de resposta são de cerca de 30%, porém, o tempo de sobrevivência permanece baixo, cerca de 6 meses, consultar [Clavel M., Vermorken J.B., Cognetti F. et al. Randomized comparison of cisplatin, methotrexate, bleomycin and vincristine (CABO) versus cisplatin and 5-fluorouracil (CF) versus cisplatin (C) in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. A phase III study of the EORTC Head and Neck Cancer Cooperative Group. *Ann Oncol* 1994; 5:521] e [Forastiere A.A., Metch B., Schuller D.E. et al. Randomized comparison of cisplatin plus fluorouracil and carboplatin plus 5-fluorouracil versus methotrexate in advanced squamous-cell carcinoma of the head and neck: a Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1992; 10:1245].

[008] Porém, é dentre os tumores gastrointestinais que os regimes à base de 5-FU têm o maior uso. Câncer colorretal (CRC) é o terceiro câncer mais comum em homens (10% do total) e o segundo em mulheres (9,2%), com mais de 1,3 milhões de casos (746.000 homens e 614 000 mulheres) relatados em todo o mundo durante 2012. A incidência geográfica

de CRC varia amplamente por todo o mundo, e os padrões geográficos são muito similares em homens e mulheres. Taxas de incidência variam em dez vezes em ambos os sexos por todo o mundo, em que as taxas estimadas mais elevadas estão na Austrália/Nova Zelândia (ASR 44,8 e 32,2 a cada 100.000 em homens e mulheres, respectivamente), e as menores na África ocidental (4,5 e 3,8 a cada 100.000). A incidência aumenta com a idade e é mais elevada entre a população idosa, isto é, 60 a 64 anos: 67,4; 65 a 69 anos: 95,1; 70 a 74 anos: 127,8; e  $\geq$  75 anos: 196,2 a cada 100.000 [Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. Lyon, França: International Agency for Research on Cancer; 2013].

[009] Aproximadamente 40 a 50% dos pacientes afetados desenvolvem doença metastática e mais de metade de um milhão de mortes são relatadas anualmente como uma consequência de CRC [Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. Março a abril de 2011;61(2):69 a 90]. De fato, CRC representou 694.000 mortes em todo o mundo apenas durante 2012 (8,5% do total) [Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, França: International Agency for Research on Cancer; 2013].

[010] Pacientes com CRC são normalmente tratados cirurgicamente e, na maioria das circunstâncias, com intenção curativa. Cirurgia, de fato, permanece como a principal modalidade de tratamento para malignidades do trato

gastrointestinal inferior, e a ressecção padrão é a única terapia necessária para câncer em estágio precoce [Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, Guillem J, et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. J Natl Cancer Inst. 18 abril de 2001;93(8):583 a 96]. Conforme o estágio do tumor avança, em termos de profundidade de penetração e envolvimento de gânglio linfático, a chance de cura apenas com cirurgia diminui e a taxa de recorrência local aumenta. Em tais casos, cirurgia pode ser combinada com o tratamento adjuvante ou ser realizada para controle paliativo apenas dos sintomas.

[011] Terapias adjuvantes demonstraram melhorar o resultado de tratamento em CRC metastático com sobrevida prolongada [Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, et al. Colorectal cancer. Lancet. 20 de março de 2010;375(9719):1.030 a 47]. Terapia adjuvante de primeira linha padrão do CRC inclui quimioterapia única e de combinação com o agente 5-Fluorouracila (5-FU) [Cunningham D (2010)]. Tratamento com 5-FU é normalmente dado em combinação com altas doses de folato (ou Leucovorina, LV) que aprimora significativamente o efeito terapêutico de 5-FU em carcinoma colorretal metastático. De fato, modulação de 5-FU com LV em doença metastática demonstrou prolongamento do tempo para progressão (TTP) da doença [Petrelli N, Douglass HO Jr, Herrera L, Russell D, Stablein DM, Bruckner HW, et al. The modulation of fluorouracil with leucovorin in metastatic colorectal carcinoma: a prospective randomized phase III trial. Gastrointestinal Tumor Study Group. J Clin Oncol. Outubro de 1989;7(10):1.419 a 26].

[012] Para tumores colorretais, a taxa de resposta original para 5-FU dada como uma monoterapia foi de apenas cerca de 10%. Adicionando-se Leucovorina (LV) a taxa de resposta foi melhorada em 21% [Thirion P, Michiels S, Pignon JP, Buyse M, Braud AC, Carlson RW, O'Connell M, Sargent P, Piedbois P (2004) Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: an updated meta-analysis. *J Clin Oncol* 22(18):3.766 a 3.775]. No entanto, LV precisa ser convertido no metabólito ativo [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato (metilenoTHF), que forma subsequentemente um complexo ternário com monofosfato de desoxiuridina (dUMP) e a enzima-alvo timidilato sintase (TS) em uma reação em que dUMP é convertido em dTMP [Jarmula A, Cieplak P, Montfort WR (2005) 5,10-Methylene-5,6,7,8-tetrahydrofolate conformational transitions upon binding to thymidylate synthase: molecular mechanics and continuum solvent studies. *J Comput Aided Mol Des* 19(2):123 a 136]. Essa reação é inibida quando o metabólito fluorado de 5-FU, FdUMP, se liga ao complexo em vez de dUMP [Parker WB, Cheng YC (1990) Metabolism and mechanism of action of 5-fluorouracil. *Pharmacol Ther* 48(3):381 a 395]. Dessa forma, LV não tem efeito antitumoral, porém, aprimora o efeito de 5-FU fornecendo-se metilenoTHF em abundância, que estabiliza o complexo ternário [Porcelli L, Assaraf YG, Azzariti A, Paradiso A, Jansen G, Peters GJ (2011) The impact of folate status on the efficacy of colorectal cancer treatment. *Curr Drug Metab* 12(10):975 a 984]. A inibição impacta as células com maior taxa de proliferação, tais como células epiteliais tumorais. Isso, por sua vez, resulta em supressão de síntese de DNA nas células, que pode resultar em morte celular por apoptose.

[013] A ativação metabólica necessária de LV em metilenoTHF é propensa a resultar em diferenças interindividuais, que podem ser a razão da taxa de resposta para 5-FU dada como uma monoterapia ter sido melhorada apenas em 21%.

[014] Um folato reduzido, **cálcio de fotrexorina (CoFactor®)** (sal de cálcio de (dl)-5,10,-metilenopterooil-monoglutamato, ou sal de Ca de [6R,S]-5,10-metileno-THF), também conhecido como metilenoTHF racêmico, foi sugerido como uma alternativa à LV com base na suposição de que a administração direta do metilenoTHF de folato reduzido no lugar de LV pode oferecer vantagens significativas com relação à atividade clínica. CoFactor® é uma mistura de 1:1 dos dois diastereoisômeros [Odin, E., Carlsson, G., Frösing, R., Gustavsson, B., Spears, C.P., Larsson, P.A., 1998. Chemical stability and human plasma pharmacokinetics of reduced folates. *Cancer Invest.* 16, 447 a 455]. Como o isômero [6R] é o cosubstrato diretamente ativo de TS, antecipou-se que a administração de CoFactor®, em vez de leucovorina, seria vantajosa devido à variabilidade inter e intrapacientes inferior com relação tanto à segurança quanto à eficácia clínica.

[015] De fato, em um Ensaio de Fase II em câncer colorretal metastático anteriormente não tratado, a taxa de resposta para CoFactor® foi de 35% [Saif, M.W, Merritt, J, Robbins J, Stewart J., Schupp, J, 2006. Phase III Multicenter Randomized Clinical Trial to Evaluate the Safety and Efficacy of CoFactor®/5-Fluorouracil/Bevacizumab Versus Leucovorin/5-Fluorouracil/ Bevacizumab as Initial Treatment for Metastatic Colorectal Carcinoma *Cancer Clinical Colorectal Cancer*, volume 6, No.

3, 229-234, 2006] e, em outro ensaio clínico de fase I/II, demonstrou-se que CoFactor® combinado com 5-FU mostrou benefício clínico em câncer de pâncreas, definido como resposta ao tumor ou doença estável, em 40% dos pacientes [Saif, M.W., Makrilia N., Syrigos K., 2010. CoFactor: Folate Requirement for Optimization of 5-Fluouracil Activity in Anticancer Chemotherapy. Journal of Oncology volume 1 a 5]. No entanto, além de apresentar uma carga de desintoxicação hepática desnecessária, o isômero (6S) não natural é um inibidor competitivo parcial do isômero (6R) natural com relação a seu efeito como cosubstrato para TS [Leary, R.P., Gaumont, Y., Kisliuk, R.L., 1974. Effects of the diastereoisomers of methylenetetrahydrofolate on the reaction catalyzed by thymidylate synthetase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 56, 484 a 488]. Ademais, em um estudo de Fase IIb, CoFactor® em câncer colorretal não demonstrou ser mais eficaz do que leucovorina, na medida em que nenhuma diferença significativa entre os braços de estudo com relação à eficácia ou segurança pôde ser encontrada, e um estudo de Fase III planejado de câncer colorretal foi suspenso antes da conclusão [Comunicado de imprensa: ADVENTRX Provides Update on Cofactor Program. 2 de novembro de 2007]. Dessa forma, existe uma necessidade por um protocolo de tratamento com 5-FU aprimorado com folato melhorado.

#### DEFINIÇÕES

[016] Conforme usado no presente documento, os termos IV ou i.v. devem, ambos, significar **intravenoso**.

[017] Conforme usado no presente documento, o termo **DLT** deve se referir à toxicidade de dose limitada. A Toxicidade de Dose Limitada (DLT) é uma ocorrência médica que

é avaliada como pelo menos possivelmente relacionada a um produto farmacêutico (isto é, a um ou mais agentes quimioterapêuticos) e é grave o suficiente para evitar maior aumento em dosagem ou força do agente de tratamento, ou para evitar a continuação do tratamento em qualquer nível de dosagem.

[018] Conforme usado no presente documento, o termo **ORR** deve se referir à Taxa de Resposta Objetiva, isto é, a proporção de pacientes com redução em carga tumoral de uma quantidade predefinida.

[019] Isso deve ser calculado como a seguir: ORR = Soma de respostas parciais mais respostas completas de acordo com RECIST 1.1 (um conjunto de regras publicadas que definem quando os tumores em pacientes com câncer progridem durante tratamentos, em que as respostas são definidas como:

[020] Resposta Completa (CR):

- Desaparecimento de todas as lesões-alvo. Todos os gânglios linfáticos patológicos (sejam alvos ou não alvos) devem ter redução em eixo geométrico curto em <10 mm.

Resposta Parcial (PR):

- Pelo menos uma diminuição de 30% na soma de diâmetros de lesões-alvo, admitindo-se como referência a soma de linha de base de diâmetros.

Doença Progressiva (PD):

- Pelo menos um aumento de 20% na soma de diâmetros de lesões-alvo, admitindo-se como referência a menor soma no estudo (isso inclui a soma de linha de base se essa for a menor no estudo).
- Adicionalmente ao aumento relativo de 20%, a soma também deve demonstrar um aumento absoluto de pelo menos

5 mm. (Nota: o surgimento de uma ou mais novas lesões também é considerado progressão).

Doença Estável (SD):

- Nem redução suficiente para se qualificar como PR nem aumento suficiente para se qualificar como PD, admitindo-se como referência a menor soma de diâmetros durante o estudo.

[020] (Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumors: revised RECIST guideline (versão 1.1). Eur J Cancer. Janeiro de 2009; 45(2):228 a 47)

[021] Conforme usado no presente documento, o termo **dU** deve ser referir à desoxiuridina.

[022] Conforme usado no presente documento, o termo **BSA** se refere à Área de Superfície Corporal

[023] Conforme usado no presente documento, o termo **doenças proliferativas** deve se referir a um conceito unificador de que a proliferação excessiva de células e rotatividade de matriz celular contribuem significativamente para a patogênese de diversas doenças que incluem câncer, aterosclerose, artrite reumatoide, psoríase, fibrose pulmonar idiopática, escleroderma, cirrose do fígado, doença de Crohn e colite ulcerosa.

AFIRMAÇÕES DA INVENÇÃO

[024] Recentemente uma formulação estável de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato ([6R]-5,10-MTHF) foi desenvolvida, a qual é uma formulação estável do diastereoisômero de ocorrência natural de MTHF. Conforme mencionado antes, [6R]-MTHF também é um metabólito de Leucovorina (LV). Diferentemente de LV, [6R]-MTHF, não precisa

passar por metabolismo adicional, e pode estar diretamente envolvido na formação do complexo ternário FdUMP-TS.

[025] De acordo com a presente invenção, constatou-se surpreendentemente que ORRs (taxas de resposta objetiva) de 50 a 60% podem ser alcançadas tratando-se pacientes com câncer colorretal de acordo com uma variedade de protocolos quimioterapêuticos que envolvem administração inicial de 5-FU, seguida da administração de [6R]-MTHF, e aproximadamente 65% dos pacientes tratados experimentaram pelo menos uma diminuição de 25% na soma de diâmetros de lesões-alvo, admitindo-se como referência a soma de linha de base de diâmetros. Foi adicionalmente demonstrado que [6R]-MTHF combinado com 5-FU mostrou benefício clínico em câncer colorretal, definido como doença estável ou resposta a tumor, em >90% dos pacientes tratados.

[026] Consequentemente, em **um primeiro aspecto** da invenção, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é fornecido para uso em um ser humano no tratamento de tumores sólidos, tais como câncer, esse tratamento compreende as seguintes etapas:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) administrar uma infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

e) No Dia 2, administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[027] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 4 horas entre cada bolo que é administrado, e em que a etapa e) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[028] Em um **segundo aspecto** da invenção é fornecido um método para tratar um ser humano diagnosticado com um tumor sólido, tal como câncer, esse método compreende:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, sendo que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) administrar uma infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1000mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

e) No Dia 2, administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[029] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que a etapa e) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[030] Em um **terceiro aspecto** da invenção, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é fornecido para uso em um ser humano no tratamento de tumores sólidos, tais como câncer, esse tratamento compreende as seguintes etapas:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

d) No Dia 2, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

e) administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[031] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que a etapa d) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[032] Em um **quarto aspecto** da invenção é fornecido um método para tratar um ser humano diagnosticado com um tumor sólido, tal como câncer, esse método compreende:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

d) No Dia 2, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

e) administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[033] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que a etapa d) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

#### FIGURAS

[034] **Figura 1** (Wettergren Y, Taflin H, Odin E, Kodeda K, Derwinger K; Cancer Chemother Pharmacol (2015) 75:37 a 47) Uma visão geral simplificada do metabolismo de folato. Dentro das células, [6R]-MTHF ([6R]-5,10-metilenoTHF) pode ser usado diretamente como um doador de metila na síntese de dTMP a partir de dUMP. A reação é catalisada pela enzima timidilato sintase (TS). Isovorin® (levoleucovorina, 5-formilTHF), por outro lado, deve ser convertido em duas etapas em metilenoTHF. Tratamento com 5-FU inibe a síntese de dTMP através da formação de FdUMP, que se liga a TS. DHF: di-hidrofolato, DHFR: di-hidrofolato redutase, SHMT1: serina hidroximetiltransferase 1, MTHFR: metileno-tetra-hidrofolato redutase, MTHFD: metileno-tetra-hidrofolato desidrogenase, MTHFS: meteniltetra-hidrofolato sintetase.

[035] **Figura 2** Resultados do estudo ISO-CC-005 em andamento: Taxas de resposta de acordo com RECIST 1.1 em trinta (30) pacientes de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> linha avaliados após o tratamento de 8 semanas e 16 semanas.

[036] **Figura 3** Trecho do comunicado de imprensa Adventrx publicado em 1º de outubro de 2007 que mostra resultados de um estudo de Fase IIB que compara Leucovorina com CoFactor, isto é, [6R,S]-5,10-metilenothF.

DESCRÍÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[037] 5-Fluorouracila (5-FU) é possivelmente o fármaco anticâncer mais amplamente usado no mundo. Constatou-se, através de Spears et al. (Spears et al., Cancer Res. 42:450 a 56 (1982)) que o mecanismo terapêutico de 5-FU contra câncer de cólon murino foi a inibição completa da enzima de DNA **timidilato sintase** (TS) ou revogação de atividade de TS. Conforme mencionado acima no presente documento, folatos (especificamente, tetra-hidrofolatos) servem como doadores de um carbono na síntese de purinas e do monofosfato de desoxitimidina de pirimidina (dTTP), e podem ser usados para modular a ação de 5-FU; consultar também a Figura 1.

[038] Diversos regimes de tratamento de câncer à base de 5-FU foram desenvolvidos, em que "folatos" são dados concomitantemente ou através de outros meios como parte do tratamento. A maioria desses regimes são variações sobre o regime FOLFOX que é o nome de um tratamento de quimioterapia de combinação. Também é conhecido como "Oxaliplatina de Gramont" ou OxMdG, que significa Oxaliplatina modificada de Gramont. É composta pelos fármacos:

[039] FOL - Ácido folínico (tipicamente leucovorina ou folinato de cálcio)

[040] F - Fluorouracila (5-FU)

[041] OX - Oxaliplatina

[042] Exemplos de agentes quimioterapêuticos frequentemente administrados dentro de CRC metastático de

primeira e segunda linha incluem 5-FU/folato, Capecitabina, Irinotecano, Oxaliplatina, Bevacizumabe, Cetuximabe e Panitumamabe, usados sozinhos ou em combinações, por exemplo, FOLFOX (isto é, LV/ 5-FU/oxaliplatina), FOLFIRI (isto é, LV/5-FU/Irinotecano), FOLFOX/bevacizumabe e 5-FU-LV/bevacizumabe e/ou irinotecano.

[043] Como um exemplo específico pode ser mencionado o protocolo de **FOLFOX4**, em que 200 mg/m<sup>2</sup> de Leucovorina são administrados iv durante 2 h antes de 5-FU no dia 1 e no dia 2 (bolo iv de 400 mg/m<sup>2</sup> de 5-FU e, então, infusão contínua iv de 600 mg/m<sup>2</sup> durante 22 h, dia 1 e dia 2. O protocolo inclui a administração de Oxaliplatina (Eloxatina) 85 mg/m<sup>2</sup> iv dia 1, e o tratamento é dado Q2w x 12 ciclos (consultar Goldberg RM et al. Pooled analysis of safety and efficacy of oxaliplatin plus 5-fluorouracil/leucovorin administrated bimonthly in elderly patients with colorectal cancer. J Clin Oncol 2006; 24:4.085).

[044] Como outro exemplo pode ser mencionado o protocolo de **FOLFOX6**, em que 400 mg/m<sup>2</sup> de Leucovorina são administrados iv durante 2 h antes de 5-FU no dia 1 seguido por 2.400 mg/m<sup>2</sup> iv durante 46 h. O protocolo inclui a administração de Oxaliplatina (Eloxatina) 100 mg/m<sup>2</sup> iv durante 2 horas no dia 1, e o tratamento é dado Q2w x 12 ciclos (consultar Tournigand, C et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: A randomized GERCOR study. J Clin Oncol 2004; 22:229).

[045] Como outro exemplo pode ser mencionado o **REGIME DE ROSWELL PARK**, em que 5-FU é dada como um bolo iv em BSA de 500 mg/m<sup>2</sup> 1 hora após o início da administração de uma infusão contínua de leucovorina (500 mg/m<sup>2</sup> iv) durante 2 h.

Esse tratamento é dado Qw x 6 semanas (uma vez por semana por seis semanas) a cada 8 semanas por 3 a 4 ciclos (consultar Lembersky BC et al. Oral uracil and tegafur plus leucovorin compared with iv 5-FU and leucovorin in stage II and III carcinoma of the colon: results from national surgical adjuvant breast and bowel project protocol C-06. J Clin Oncol 2006; 24:2059).

[046] Como ainda outro exemplo pode ser mencionado o projeto de estudo para o estudo de Fase III de CoFactor® planejado (Saif 2006, acima), em que CoFactor® teve que ser administrado a uma dose de 60 mg/m<sup>2</sup> durante 2 a 3 minutos através de bolo I.V. depois de 20 minutos pela administração de 5-FU como um bolo durante 2 a 3 minutos a uma dose de 500 mg/m<sup>2</sup> a cada semana por 6 semanas, repetido a cada 8 semanas. Nesse estudo, oxaliplatina foi substituída por bevacizumabe a ser administrada em uma dose de 5 mg/kg como uma I.V. contínua durante 90 minutos a cada 2 semanas.

[047] Tipicamente, em protocolos de tratamento atualmente empregados, tais como aqueles citados acima no presente documento, 5-FU é sempre administrado após o adjuvante de folato (por exemplo, Leucovorina), enquanto, através da presente invenção, o tratamento é iniciado administrando-se um bolo de 5-FU. Conforme afirmado acima no presente documento, as taxas de resposta mais elevadas (ORRs) alcançadas que empregam tais protocolos estiveram na ordem de 35 a 40%.

[048] De acordo com a presente invenção, portanto, foi surpreendentemente constatado que ORRs (taxas de resposta objetiva) de 50 a 60% podem ser alcançadas tratando-se pacientes com câncer colorretal de acordo com um regime de modo que a administração inicial de 5-FU seja seguida por

múltiplos bolos IV de [6R]-MTHF espaçados por um intervalo de cerca de 10 a 4 horas entre cada bolo.

[049] Consequentemente, em **um primeiro aspecto** da invenção, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é fornecido para uso no tratamento em um ser humano de um tumor sólido, tal como câncer, esse tratamento compreende as seguintes etapas:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) administrar uma infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

e) No Dia 2, administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[050] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que a etapa e) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada

2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[051] Em uma modalidade do primeiro aspecto da invenção, a etapa a) é precedida pela administração de um fármaco anticâncer no Dia 1, seja como um bolo IV ou como uma infusão durante um período de 1 a 4 horas.

[052] Em outra modalidade, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é fornecido para o tratamento de acordo com o primeiro aspecto da invenção, em que a etapa a) é precedida pela administração de um fármaco anticâncer no Dia 1, seja como um bolo IV ou como uma infusão durante um período de 1 a 4 horas.

[053] Em um segundo aspecto da invenção é fornecido um método para tratar um ser humano diagnosticado com um tumor sólido, tal como câncer, esse método compreende:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, sendo que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) administrar uma infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1000mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

e) No Dia 2, administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[054] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que a etapa e) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[055] Em um **terceiro aspecto** da invenção, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é fornecido para uso no tratamento em um ser humano de um tumor sólido, tal como câncer, esse tratamento compreende as seguintes etapas:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

d) No Dia 2, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

e) administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[056] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que a etapa d) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[057] Em uma outra modalidade, no tratamento de acordo com o terceiro aspecto da invenção, a etapa a) é precedida pela administração de um fármaco anticâncer no Dia 1, seja como um bolo IV ou como uma infusão durante um período de 1 a 4 horas.

[058] Em um **quarto aspecto** da invenção é fornecido um método para tratar um ser humano diagnosticado com um tumor sólido, tal como câncer, esse método compreende:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

d) No Dia 2, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

e) administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[059] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que a etapa d) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[060] Durante um estudo clínico em andamento atualmente (dezembro de 2017) também se constatou, surpreendentemente, que a administração de [6R]-MTHF e 5-FU de acordo com o primeiro, o segundo, o terceiro e o quarto aspecto da presente invenção durante um período de tratamento de pelo menos 8 semanas resultou em uma prevenção ou retardamento da progressão em um ser humano de tumores sólidos. Nenhuma progressão estatisticamente significativa dos ditos tumores sólidos foi observada entre 8 e 16 semanas após início de tratamento.

[061] Em **um quinto aspecto** da invenção, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é, portanto, fornecido para uso na prevenção ou retardamento da progressão em um ser humano dos tumores sólidos que incluem câncer, que compreende realizar e repetir as etapas a) a e), de acordo com o primeiro aspecto

da presente invenção, durante um período de tratamento total de pelo menos 8 semanas.

[062] Em uma modalidade preferencial do quinto aspecto, é fornecido [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato para uso na prevenção ou retardamento da progressão em um ser humano dos tumores sólidos, em que as etapas a) a e), de acordo com o primeiro aspecto da presente invenção, são realizadas e repetidas durante um período de tratamento total de pelo menos 16 semanas, e em que nenhuma progressão estatisticamente significativa dos ditos tumores sólidos é observada entre 8 e 16 semanas após início de tratamento.

[063] Em **um sexto aspecto** da invenção, é fornecido um método para prevenir ou retardar a progressão em um ser humano diagnosticado com um tumor sólido, tal como câncer, que compreende realizar e repetir as etapas a) a e), de acordo com o segundo aspecto da presente invenção, durante um período de tratamento total de pelo menos 8 semanas.

[064] Em uma modalidade preferencial do sexto aspecto, é fornecido um método para prevenir ou retardar a progressão em um ser humano diagnosticado com um tumor sólido, tal como câncer, que compreende realizar e repetir as etapas a) a e), de acordo com o segundo aspecto da presente invenção, durante um período de tratamento total de pelo menos 8 semanas em que nenhuma progressão estatisticamente significativa dos ditos tumores sólidos é observada entre 8 e 16 semanas após início de tratamento.

[065] Em uma modalidade específica da invenção é fornecido [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato para uso no tratamento em um ser humano com tumores sólidos que incluem

câncer, caracterizado por esse tratamento compreender as seguintes etapas:

a) No Dia 1, fornecer um bolo IV para administração de **400 mg/m<sup>2</sup>** (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, após um período de 30 min, por

b) fornecer um bolo IV para administração de 30 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) fornecer uma solução IV para infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) No Dia 2, fornecer **dois** bolos IV, espaçados por um período de 30 minutos, cada um para administração de **30 mg/m<sup>2</sup>** de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[066] em que todas as etapas a) a d) são repetidas toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[067] Em uma modalidade preferencial da invenção é fornecido [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato para uso no tratamento em um ser humano com tumores sólidos que incluem câncer, esse tratamento compreende as seguintes etapas:

a) No Dia 1, fornecer um bolo IV para administração de **400 mg/m<sup>2</sup>** (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, após um período de 30 min, por

b) fornecer um bolo IV para administração de **60 mg/m<sup>2</sup>** de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) fornecer uma solução IV para infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) No Dia 2, fornecer **dois** bolos IV, espaçados por um período de 30 minutos, cada um para administração de **60 mg/m<sup>2</sup>** de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[068] em que todas as etapas a) a d) são repetidas toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[069] Em outra modalidade específica da invenção é fornecido [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato para uso no tratamento em um ser humano com tumores sólidos que incluem câncer, caracterizado por esse tratamento compreender as seguintes etapas:

a) No Dia 1, fornecer um bolo IV para administração de **400 mg/m<sup>2</sup>** (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, após um período de 30 min, por

b) fornecer um bolo IV para administração de **120 mg/m<sup>2</sup>** de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) fornecer uma solução IV para infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) No Dia 2, fornecer **dois** bolos IV, espaçados por um período de 30 minutos, cada um para administração de **120 mg/m<sup>2</sup>** de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[070] em que todas as etapas a) a d) são repetidas toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[071] Em uma modalidade específica da invenção é fornecido [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato para uso no tratamento em um ser humano com tumores sólidos que incluem câncer, caracterizado por esse tratamento compreender as seguintes etapas:

a) No Dia 1, fornecer um bolo IV para administração de **400 mg/m<sup>2</sup>** (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, após um período de 30 min, por

b) fornecer um bolo IV para administração de 30 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) fornecer uma solução IV para infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

[072] em que todas as etapas a) a c) são repetidas toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[073] Em uma modalidade preferencial da invenção é fornecido [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato para uso no tratamento em um ser humano com tumores sólidos que incluem câncer, esse tratamento compreende as seguintes etapas:

a) No Dia 1, fornecer um bolo IV para administração de **400 mg/m<sup>2</sup>** (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, após um período de 30 min, por

b) fornecer um bolo IV para administração de **60 mg/m<sup>2</sup>** de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) fornecer uma solução IV para infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

[074] em que todas as etapas a) a c) são repetidas toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[075] Em outra modalidade específica da invenção é fornecido [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato para uso no tratamento em um ser humano com tumores sólidos que incluem

câncer, caracterizado por esse tratamento compreender as seguintes etapas:

a) No Dia 1, fornecer um bolo IV para administração de **400 mg/m<sup>2</sup>** (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, após um período de 30 min, por

b) fornecer um bolo IV para administração de **120 mg/m<sup>2</sup>** de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) fornecer uma solução IV para infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

[076] em que todas as etapas a) a d) são repetidas toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[077] Em outra modalidade é fornecido o uso de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato na preparação de um medicamento para reduzir a toxicidade e/ou melhorar o efeito terapêutico de 5-fluorouracila (5-FU), em que o dito medicamento deve ser coadministrado com 5-fluorouracila (5-FU) para o tratamento de tumores sólidos, tal como câncer, de acordo com o seguinte regime:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato espaçados por um período de 10 a 60 minutos, seguido por

c) administrar uma infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

e) No Dia 2, administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[078] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 4 horas entre cada repetição e em que a etapa e) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[079] Em outra modalidade específica da invenção é fornecida uma composição farmacêutica para tratar tumores sólidos, tal como câncer, que compreende [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, em que a dita composição é coadministrada com 5-fluorouracila (5-FU) pelo seguinte regime de dosagem:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato espaçados por um período de 10 a 60 minutos, seguido por

c) administrar uma infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

e) No Dia 2, administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[080] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 4 horas entre cada repetição e em que a etapa e) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[081] Em ainda outra modalidade específica da invenção é fornecida uma composição farmacêutica para tratar tumores sólidos, tal como câncer, que compreende 5-fluorouracila (5-FU), em que a dita composição é administrada com [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato pelo seguinte regime de dosagem:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato espaçados por um período de 10 a 60 minutos, seguido por

c) administrar uma infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

e) No Dia 2, administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[082] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 4 horas entre cada repetição e em que a etapa e) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[083] Em outra modalidade específica é fornecido o uso de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato na fabricação de um medicamento para o tratamento de tumores sólidos, tal como câncer, em que o medicamento deve ser coadministrado com 5-fluorouracila (5-FU) de acordo com o seguinte regime:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato espaçados por um período de 10 a 60 minutos, seguido por

c) administrar uma infusão contínua de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo) durante um período de 46 horas, ou até o fim do Dia 2, seguido por

d) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

e) No Dia 2, administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

[084] em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 4 horas entre cada repetição e em que a etapa e) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[085] Em modalidades preferenciais de qualquer aspecto da presente invenção, um bolo IV de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato contém 30, 60 ou 120 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato.

[086] Em outra modalidade preferencial de qualquer um dos aspectos da invenção, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é administrado duas vezes no Dia 1, e nenhuma administração no Dia 2.

[087] Em outra modalidade de qualquer um dos aspectos da invenção, a etapa a) é precedida pela administração de um ou mais fármacos anticâncer no Dia 1, seja como um bolo IV ou como uma infusão durante um período de 1 a 4 horas. Em modalidades separadas, o fármaco anticâncer pode ser um ou mais fármacos selecionados a partir de Fármacos de Platina, tais como cisplatina (CDDP), carboplatina (CBDCA) e oxaliplatina (oloxetina), Antimetabólitos, tais como 5-fluoruracila (5-FU), capecitabina (Xeloda), gencitabina

(Gemzar), metotrexato e pemetrexede (Alimta), Antibióticos antitumorais, tais como doxorrubicina (Adriamicina), daunorubicina, actinomicina-D e mitomicina-C (MTC), Inibidores de Topoisomerase, tal como irinotecano (CPT-11), topotecano (hicitina) e etopósido (VP-16), Inibidores Mitóticos, tais como paclitaxel (Taxol), docetaxel (Taxotere) e vincristina (Oncovina), Corticosteroides, tais como prednisona, metilprednisolona (Solumedrol) e dexametasona (Decadron), ou pode ser selecionado a partir de Terapias Alvejadas que incluem Anticorpos Monoclonais (MABs), tais como cetuximabe (Erbitux), rituximabe (Rituxan) e bevacizumabe (Avastin), ou Inibidores de EGFR Molecular Pequeno, tal como gefitinibe (Iressa), ou podem ser selecionados a partir de Terapias Hormonais, tais como tamoxifeno (Nolvadex) e bicalutamida (Casodex), ou podem ser selecionados a partir de Agentes de Imunoterapia contra Câncer, que incluem Anticorpos Monoclonais, ou Inibidores de Ponto de Verificação Imunológico, tais como inibidores de PD-1 que incluem pembrolizumabe (Keytruda) e nivolumabe (Opdivo), ou inibidores de PD-L1 que incluem atezolizumabe (Tecentriq), ou Vacinas contra Câncer.

[088] Em outra modalidade de qualquer um dos aspectos da invenção, o [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato administrado é um único diastereoisômero com um excesso diastereoisomérico (d.e.) de > 90% de d.e., tal como > 93% de d.e., tal como > 95% de d.e., tal como > 98% de d.e., tal como > 99% de d.e., tal como > 99,5% de d.e. ou tal como > 99,9% de d.e. Em uma modalidade preferencial, o [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato administrado é um único diastereoisômero com um excesso diastereoisomérico (d.e.) > 98% de d.e.

[089] Em outra modalidade de qualquer um dos aspectos da invenção, o tumor sólido é selecionado a partir de várias formas de câncer que incluem câncer de cólon, câncer de estômago, câncer de mama, câncer de intestino, câncer de vesícula biliar, câncer de pulmão (especificamente adenocarcinoma), câncer colorretal (CRC) que inclui CRC metastático, câncer de cabeça e pescoço, câncer de fígado, osteossarcoma e câncer pancreático.

[090] Em uma modalidade particular de qualquer um dos aspectos da invenção, o tumor sólido é selecionado a partir de câncer de cólon e câncer colorretal.

[091] Em outra modalidade da invenção, o análogo de 5-FU ou pró-fármaco é selecionado a partir de bases de pirimidina fluoradas, tal como capecitabine (Xeloda), isto é, N4-pentiloxicarbonil-5'-desoxi-5-fluorocitidina, tegafur, 5-fluoro-pirimidinona, UFT, doxifluridina, 2'-desoxi-5-fluorouridina, 5'-desoxi-5-fluorouridina, 1-(2'-oxopropil)-5-FU e alquil-carbonil-5-FU, BOF-A2, ftorafur(TS-1) e S-1

[092] Em uma modalidade, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato ([6R]-MTHF) é empregado como uma forma sólida que é solúvel em água, tal como um liofilizado ou um sal, opcionalmente estabilizado por um ou mais excipientes e/ou antioxidantes adequados, tais como ácido cítrico ou ácido ascórbico ou formas de sal dos mesmos.

[093] Em uma modalidade, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato ([6R]-MTHF) é administrado como um ou mais bolos IV, sendo que cada bolo contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 5 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 7 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 10 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 15 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 30 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 60 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 120 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal

como 240 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 480 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 720 mg/m<sup>2</sup> de BSA ou tal como 960 mg/m<sup>2</sup> de BSA.

[094] Em uma modalidade adicional, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é administrado até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 20 a 30 min entre cada bolo que é administrado.

[095] Em uma outra modalidade, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é administrado até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo de 20 a 30 min entre cada bolo que é administrado.

[096] Ainda em uma outra modalidade, [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato é administrado até 4 vezes tanto no Dia 1 quanto no Dia 2 com um intervalo de 20 a 30 min entre cada bolo que é administrado.

[097] Em uma modalidade, 5-fluorouracila (5-FU) é administrada como um ou mais bolos IV, sendo que cada bolo contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 300 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 400 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 500 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 600 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 700 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 800 mg/m<sup>2</sup> de BSA, tal como 900 mg/m<sup>2</sup> BSA ou tal como 1.000 mg/m<sup>2</sup> de BSA.

[098] Em uma modalidade de qualquer um dos aspectos da invenção, um ciclo de tratamento compreende dois dias. Esse regime pode ser opcionalmente repetido a cada 2 semanas por quatro (4) ciclos, isto é, um total de oito (8) semanas.

[099] Em outra modalidade de qualquer um dos aspectos da invenção, o Dia 1 e o Dia 2 do ciclo de tratamento são separados por um período de 1 a 5 dias, por exemplo, para fins de monitoramento.

[100] Em uma modalidade preferencial de qualquer um dos aspectos da invenção, um ciclo de tratamento compreende dois dias. Esse regime pode ser opcionalmente repetido a cada 2 semanas por oito (8) ciclos, isto é, um total de dezesseis (16) semanas.

[101] Em outra modalidade de qualquer um dos aspectos da invenção, o ciclo de tratamento é estendido para além do Dia 1 e Dia 2 por um período de 1 a 5 dias.

### EXEMPLOS

[102] A segurança e eficácia de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato ([6R]-MTHF) é analisada em um Ensaio de Coorte de Dose aberto de Fase I/II em múltiplos locais (ISO-CC-005) em combinação com uma dose fixa de 5-Fluorouracila (5-FU) sozinha ou juntamente com uma dose fixa de Bevacizumabe, Oxaliplatina ou Irinotecano em pacientes com câncer colorretal em estágio IV. Planeja-se que um máximo de 63 pacientes com CRC em Estágio IV elegíveis para o tratamento de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> ou 3<sup>a</sup> linha sejam inscritos nesse estudo dispostos como a seguir: três a seis pacientes em cada coorte de dose, e mais três pacientes em um coorte de dose em cada braço de tratamento de acordo com o seguinte projeto de estudo (Tabela 1).

[103] **TABELA 1:** Doses Iniciais dos Agentes Quimioterapêuticos (Bevacizumabe, Oxaliplatina, Irinotecano e/ou 5-FU) e do Fármaco de Estudo ([6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato)

Braço de Tratamento	Coorte*	Bevacizumabe	Oxaliplatina <sup>†</sup>	Irinotecano <sup>#</sup>	5-FU <sup>§*</sup>	[6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato	5-FU
		<i>Em aproximadamente -180 minutos (infusão 30 a 90 min)</i>	<i>Em aproximadamente -60 minutos (infusão 15 a 120 min)</i>	<i>Em aproximadamente -60 minutos (infusão 30 a 90 min)</i>	<i>Em 0 minuto (bolo)</i>	<i>Em aproximadamente 30 minutos (bolo) <sup>a</sup></i>	<i>Em aproximadamente 35 minutos (infusão contínua de 46 horas) <sup>a</sup></i>
Braço 1	Coorte 1	N/A	N/A	N/A	500 mg/m <sup>2</sup>	30 mg/m <sup>2</sup>	N/A
	Coorte 2	N/A	N/A	N/A	500 mg/m <sup>2</sup>	60 mg/m <sup>2</sup>	N/A
	Coorte 8	N/A	N/A	N/A	500 mg/m <sup>2</sup>	120 mg/m <sup>2</sup>	N/A

	Coorte 9	N/A	N/A	N/A	500 mg/m <sup>2</sup>	240 mg/m <sup>2</sup>	N/A
Braço 2	Coorte 4	N/A	85 mg/m <sup>2</sup>	N/A	500 mg/m <sup>2</sup>	30 mg/m <sup>2</sup>	N/A
	Coorte 5	N/A	85 mg/m <sup>2</sup>	N/A	500 mg/m <sup>2</sup>	60 mg/m <sup>2</sup>	N/A
Braço 3	Coorte 6	N/A	N/A	180 mg/m <sup>2</sup>	500 mg/m <sup>2</sup>	30 mg/m <sup>2</sup>	N/A
	Coorte 7	N/A	N/A	180 mg/m <sup>2</sup>	500 mg/m <sup>2</sup>	60 mg/m <sup>2</sup>	N/A
Braço 4	Coorte 12	N/A	85 mg/m <sup>2</sup>	N/A	400 mg/m <sup>2</sup>	60 mg/m <sup>2</sup> <sup>a</sup>	2.400 mg/m <sup>2</sup>
	Coorte 13	N/A	85 mg/m <sup>2</sup>	N/A	400 mg/m <sup>2</sup>	120 mg/m <sup>2</sup> <sup>a</sup>	2.400 mg/m <sup>2</sup>
	Coorte 14	N/A	85 mg/m <sup>2</sup>	N/A	400 mg/m <sup>2</sup>	240 mg/m <sup>2</sup> <sup>a</sup>	2.400 mg/m <sup>2</sup>
Braço 5	Coorte 15	5 mg/kg	85 mg/m <sup>2</sup>	N/A	400 mg/m <sup>2</sup>	SP2D <sup>a,b</sup>	2.400 mg/m <sup>2</sup>

[104] Abreviação: **N/A**: não aplicável, **SP2D**: dose de fase 2 selecionada.

¶ A janela de ponto no tempo para administração de Oxaliplatina será expandida para permitir tempos de infusão de até 120 minutos, caso necessário

# A janela de ponto no tempo para administração de Irinotecano será expandida para permitir tempos de infusão de até 90 minutos, caso necessário

§ A dose de 5-FU em bolo administrada não deve superar a dose diária máxima recomendado de 1.000 mg, independentemente da área de superfície corporal.

\* Coorte nº 3, Coorte nº 10 e Coorte nº 11, originalmente incluídos em versões anteriores desse protocolo de estudo clínico, foram apagados.

a No Braço de Tratamento nº 4 (Coortes nº 12, nº 13 e nº 14) e Braço nº 5 (Coorte nº 15) a dose total de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato será dividida em duas (2) injeções de bolo i.v. distribuídas aproximadamente 30 e 60

minutos após a administração da injeção de bolo de 5-FU (em 0 minuto), respectivamente. A infusão de 5-FU contínua será pausada para administração da segunda injeção de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato.

b O nível de dose de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato no Braço de Tratamento nº 4 (MOFOX) avaliado como o nível de dose com o perfil mais favorável para a seguinte investigação.

[105] **Ácido [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofólico** é formulado como um pó liofilizado que contém 100 mg por frasco (calculado como ácido livre). Dosagem: Injeções de bolo i.v. rápidas em uma dose fixa de 30, 60, 120 ou 240 mg/m<sup>2</sup>, serão administradas aproximadamente 30 minutos após a administração de 5-FU no Dia 1 e Dia 2 em cada ciclo de tratamento em todos os coortes de dose do estudo (isto é, independentemente do braço de tratamento). O regime será repetido toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[106] **5-FU (5-fluorouracila)** é formulada como solução de injeção. Dosagem: 5-FU será administrada como injeções de bolo i.v. no Dia 1 e Dia 2 em cada ciclo de tratamento. No Braço nº 2 e Braço nº 3 do estudo, 5-FU será administrada aproximadamente 60 minutos após o início da administração de Oxaliplatina ou Irinotecano, respectivamente (consultar a descrição abaixo). O regime será repetido toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[107] **Oxaliplatina** é formulada como uma solução de infusão concentrada. Dosagem: Oxaliplatina será administrada como infusão i.v. durante 15 a 120 minutos no Dia

1 em cada ciclo de tratamento no Braço de tratamento nº 2 do estudo (isto é, Coortes nº 4, nº 5, nº 10 e nº 11) e repetido toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas. Cuidados serão tomados com relação à toxicidade associada à administração que pode afetar a taxa de infusão (por exemplo, alergia de grau ≤ 2, disestesias laringofaríngeas, e espasmo laríngeo). Em tais casos, a taxa de administração de Oxaliplatina deve ser prolongada nos ciclos seguintes de acordo com as recomendações da prática clínica.

[108] **Irinotecano** é formulado como uma solução de infusão concentrada. Dosagem: Irinotecano será administrado como infusão i.v. durante 30 a 90 minutos no Dia 1 em cada ciclo de tratamento no Braço de tratamento nº 3 do estudo (isto é, Coortes nº 6 e nº 7) e repetido toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas. Cuidados serão tomados com relação à toxicidade precoce (dentro de 24 horas) associada à administração de Irinotecano, isto é, síndrome colinérgica aguda, caracterizada por diarreia precoce, êmese, diaforese, cólica abdominal e, menos comum, hiperlacrimação e rinorreia. Em tais casos, o uso de anticolinérgicos de acordo com as recomendações da prática clínica é necessário.

[109] **Avastin** (bevacizumabe) é formulado como uma solução de infusão concentrada. Dosagem: Bevacizumabe é administrado como infusão i.v. durante 30 a 90 minutos no Dia 1 em cada ciclo de tratamento no Braço de tratamento nº 5 do estudo (isto é, Coortes nº 15) e repetido toda segunda semana por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

[110] Toxicidade associada ao Bevacizumabe: Com base nos dados a partir de ensaios clínicos nos quais pacientes

foram principalmente tratados com Bevacizumabe em combinação com quimioterapia, o seguinte pôde ser reconhecido como toxicidade associada ao Bevacizumabe: Eventos adversos graves mais comuns: perfurações gastrointestinais, hemorragia (que inclui hemorragia pulmonar/hemoptise), e tromboembolismo arterial; Eventos adversos mais comuns: hipertensão, fadiga ou astenia, diarreia e dor abdominal.

### Resultados

[111] ISO-CC-005 é um estudo de definição de tolerabilidade e dose fase I/II clínico aberto projetado para avaliar a segurança e definir a dose de [6R]-MTHF para desenvolvimento contínuo. O mesmo avalia quatro doses de [6R]-MTHF em combinação com 5-FU com ou sem as diferentes combinações de irinotecano ou oxaliplatina e bevacizumabe em pacientes com Câncer Colorretal metastático com o uso de 4 diferentes protocolos:

- MOD+5-FU: [6R]-MTHF em combinação com 5-FU apenas, similar ao protocolo Nordic FLV
- MOD+FLIRI: [6R]-MTHF em combinação com 5-FU e Irinotecano, similar ao protocolo Nordic FLIRI
- MOD+FLOX: [6R]-MTHF em combinação com 5-FU e Oxaliplatina, similar ao protocolo Nordic FLOX
- MOFOX: [6R]-MTHF em combinação com 5-FU e Oxaliplatina, similar ao protocolo FOLFOX-6

[112] Os pacientes pertencem a diversas linhas de tratamento que estão na faixa de primeira até terceira e mesmo quinta linhas. Os resultados do estudo são regularmente avaliados, e os resultados do grupo de pacientes que passam por tratamento de 1<sup>a</sup> linha e parcialmente o grupo de pacientes que passa pelo tratamento de 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> linha foram

anteriormente (em agosto de 2017) e novamente agora (dezembro de 2017) analisados. O estudo clínico ainda está em andamento.

[113] No total, 30 pacientes foram analisados após o tratamento de 8 semanas em agosto de 2017, incluindo pacientes de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> linha (consultar a Figura 2). Desses 30 pacientes, 4 (13%) mostraram doença progressiva, 18 (60%) mostraram doença estável e 8 (27%) mostraram resposta parcial. Em termos de linha de tratamento, 100% dos pacientes que passaram pelo tratamento de 1<sup>a</sup> linha mostraram benefício clínico em câncer colorretal, definido como doença estável ou resposta parcial, e para esse grupo de pacientes a ORR foi de 50%.

[114] Em setembro de 2017 os efeitos adversos (AES) gastrointestinais (GI) para um total de 37 pacientes de ISO-CC-005 foram analisados. Dos 37 pacientes, apenas 2 (dois) pacientes (5,4%) relataram um evento adverso GI (definido como náusea, vômito e/ou desidratação) de grau 3 ou maior.

[115] Em dezembro de 2017, um total de 25 pacientes do estudo ISO-CC-005 que recebem o tratamento de 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> ou 5<sup>a</sup> linha foi analisado acerca do efeito do tratamento de 8 semanas, e oito (8) pacientes de 1<sup>a</sup> linha também para o tratamento de 16 semanas<sup>2</sup> (consultar a Figura 2). Quatro (4) pacientes de 1<sup>a</sup> linha não puderam ser seguidos durante o tratamento de 8 semanas adicionais devido às formalidades de protocolo de estudo. Nenhum paciente de 1<sup>a</sup> linha adicional foi analisado nesse ponto.

[116] De acordo com as expectativas gerais para pacientes de câncer que não responderam bem ao tratamento de

---

<sup>2</sup> 16 semanas é considerado a programação padrão para tratamento de câncer de acordo com orientações de prática clínica para a ESMO (Sociedade Europeia de Oncologia Médica).

1<sup>a</sup> linha, os pacientes de tratamento de **2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> ou 5<sup>a</sup> linha** não responderam, bem como os pacientes de 1<sup>a</sup> linha. Todavia, não menos que **64%** desses pacientes mostraram benefício clínico em câncer colorretal, definido como doença estável ou resposta parcial (consultar a Figura 2) quando analisados após o tratamento de 8 semanas, o que é uma porcentagem surpreendentemente alta.

[117] Para os oito (8) pacientes de 1<sup>a</sup> linha restantes que receberam 16 semanas de tratamento, nenhuma progressão no câncer foi observada após o tratamento inicial de 8 semanas. Dessa forma, os 3 pacientes que mostram Doença Estável em 8 semanas ainda mostraram Doença Estável em 16 semanas, e os 5 pacientes que mostram Resposta Parcial em 8 semanas ainda mostraram Resposta Parcial em 16 semanas. Isso corresponde a **100%** dos pacientes de 1<sup>a</sup> linha que mostram benefício clínico em câncer colorretal, e uma ORR de **63%**.

[118] Deve-se notar que os 3 pacientes que foram tratados de acordo com o protocolo MOFOX (dois de 1<sup>a</sup> linha e um de 2<sup>a</sup> linha) e mostraram Resposta Parcial após o tratamento de 8 semanas ainda mostraram Resposta Parcial após o tratamento de 8 semanas, e que o único paciente de tratamento de 2<sup>a</sup> linha que estava em tratamento MOFOX foi o único paciente de 2<sup>a</sup> linha que mostrou Resposta Parcial após tratamento MOFOX de 16 semanas.

[119] As ORRs muito altas (observadas ambas em 8 e 16 semanas) e baixa incidência de Eventos Adversos (AES) (analisados em 8 semanas) são surpreendentes, dado o fato de que CoFactor, que é a mistura de diastereoisômero de 1:1 [6R,S]-MTHF, foi mostrado em um estudo de Fase IIb que compara CoFactor com Leucovorina em pacientes de primeira linha para

resultar em pacientes com 7,7% de CoFactor que relatam pelo menos um AE de grau 3 ou maior contra 3,3 % para Leucovorina, e adicionalmente que as ORRs para CoFactor e Leucovorina foram 10,7% e 13,3%, respectivamente (Comunicado de Imprensa Adventrx 1º de outubro de 2007, Figura 3).

[120] Sem estar vinculado à teoria, os inventores especularam que a diferença entre CoFactor e [6R]-MTHF - conforme avaliado por sua diferença em eficácia e AEs em estudos comparativos com Leucovorina - pode ser atribuída à presença de 50% de [6S]-MTHF em CoFactor, isto é, o diastereoisômero oposto de [6R]-MTHF. Como CoFactor foi abandonado diversos anos atrás não é possível abordar diretamente essa questão em uma definição clínica, porém, sabe-se bem que para diversos compostos farmaceuticamente ativos pode haver uma grande diferença tanto em efeito desejado quanto em efeitos colaterais ao comparar enantiômeros puros com racematos, ou ao comparar isômeros geométricos, tais como *cis* e *trans*-isômeros. Na presente situação de isômero diastereoisomérico, o isômero [6S] não natural já demonstrou ser um inibidor competitivo parcial do isômero [6R] natural, [6R]-MTHF, com relação a seu efeito como cossubstrato para Timidilato Sintase [Leary, R.P., Gaumont, Y., Kisliuk, R.L., 1974. Effects of the diastereoisomers of methylenetetrahydrofolate on the reaction catalyzed by thymidylate synthetase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 56, 484 a 488].

[121] O estudo demonstrou até o momento que [6R]-MTHF combinado com 5-FU mostrou benefício clínico em câncer colorretal, definido como doença estável ou resposta parcial.

- em uma proporção muito grande de pacientes tratados,
- em vários protocolos de tratamento diferentes, e
- para o tratamento de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> 3<sup>a</sup> ou 5<sup>a</sup> linha.

[122] Em particular, o estudo demonstrou que [6R]-MTHF combinado com 5-FU fornece resultados muito bons para o grupo de pacientes que receberam anteriormente outras terapias contra câncer, e que o tratamento com [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato em combinação com 5-FU de acordo com a presente invenção pode prevenir ou retardar a progressão de tumores sólidos.

[123] Os resultados de estudo sustentam, adicionalmente, que [6R]-MTHF em combinação com diferentes formas de agentes citostáticos podem ser seguros, e que [6R]-MTHF pode ser eficaz e seguro para esses pacientes gravemente doentes. A toxicidade de dose limitada (DLT) dos agentes citostáticos empregada em tratamento de câncer tipicamente previne o aumento adicional em dosagem ou força do agente de tratamento, ou previne a continuação de tratamento em um nível de dosagem atual. Portanto, DLT frequentemente limita gravemente as doses de agentes citostáticos que podem ser dadas a um paciente. Os resultados do estudo ISO-CC-005 alcançados até o momento indicaram que a toxicidade de 5-FU quando combinada com [6R]-MTHF é reduzida, em comparação com combinações de 5-FU com outros adjuvantes de folato. Isso pode permitir o uso de doses superiores de 5-FU sem provocar efeitos colaterais de dose limitada.

REIVINDICAÇÕES

1. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO PARA USO NO TRATAMENTO DE TUMORES SÓLIDOS QUE INCLUEM CÂNCER EM UM SER HUMANO, caracterizado por esse tratamento compreender as seguintes etapas:

a) No Dia 1, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

b) administrar um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato, seguido por

c) administrar opcionalmente um bolo IV que contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato antes do fim do Dia 1, seguido por

d) No Dia 2, administrar um bolo IV que contém 10 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de 5-FU (ou um análogo ou pró-fármaco do mesmo), seguido, seja simultaneamente ou após um período de 10 min a 4 horas, por

e) administrar opcionalmente um ou mais bolos IV, em que cada um contém 5 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> (de BSA) de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato,

em que a etapa b) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 1 com um intervalo de 10 min a 60 min entre cada bolo que é administrado e em que a etapa e) é opcionalmente repetida até 4 vezes no Dia 2 com um intervalo entre 10 min e 60 min entre cada bolo que é administrado, e em que todas as etapas a) a e) são opcionalmente repetidas a cada 2 semanas por até oito (8) ciclos, isto é, até dezesseis (16) semanas.

2. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo

com a reivindicação 1, caracterizado pelo tumor sólido ser uma forma de câncer selecionada dentre câncer de cólon, câncer de estômago, câncer de mama, câncer de intestino, câncer de vesícula biliar, câncer de pulmão (especificamente adenocarcinoma), câncer colorretal (CRC) que inclui CRC metastático, câncer de cabeça e pescoço, câncer de fígado, osteossarcoma e câncer pancreático.

3. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou 2, caracterizado pelo tumor sólido ser um câncer colorretal (CRC) que inclui CRC metastático.

4. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pela etapa a) ser precedida pela administração de um ou mais fármacos anticâncer no Dia 1, seja como um bolo IV ou como uma infusão durante um período de 1 a 4 horas.

5. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 3 ou 4, caracterizado pelo fármaco anticâncer ser selecionado dentre oxaliplatina, irinotecano (CPT11) e bevacizumabe (Avastin).

6. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado por pelo menos dois bolos de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato serem administrados no Dia 1 na etapa b).

7. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado por pelo menos dois bolos de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato serem administrados no Dia 2 na etapa e).

8. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por até quatro bolos de

[6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato serem administrados com um intervalo de 20 a 30 min entre cada bolo.

9. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado por até quatro bolos de [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato serem administrados com um intervalo de 20 a 30 min entre cada bolo.

10. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato ser empregado como uma forma sólida que é solúvel em água, tal como um liofilizado ou um sal, opcionalmente estabilizado por um ou mais excipientes e/ou antioxidantes adequados, tais como ácido cítrico ou ácido ascórbico ou formas de sal dos mesmos.

11. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato ter uma pureza diastereoisomérica maior que 98% de d.e.

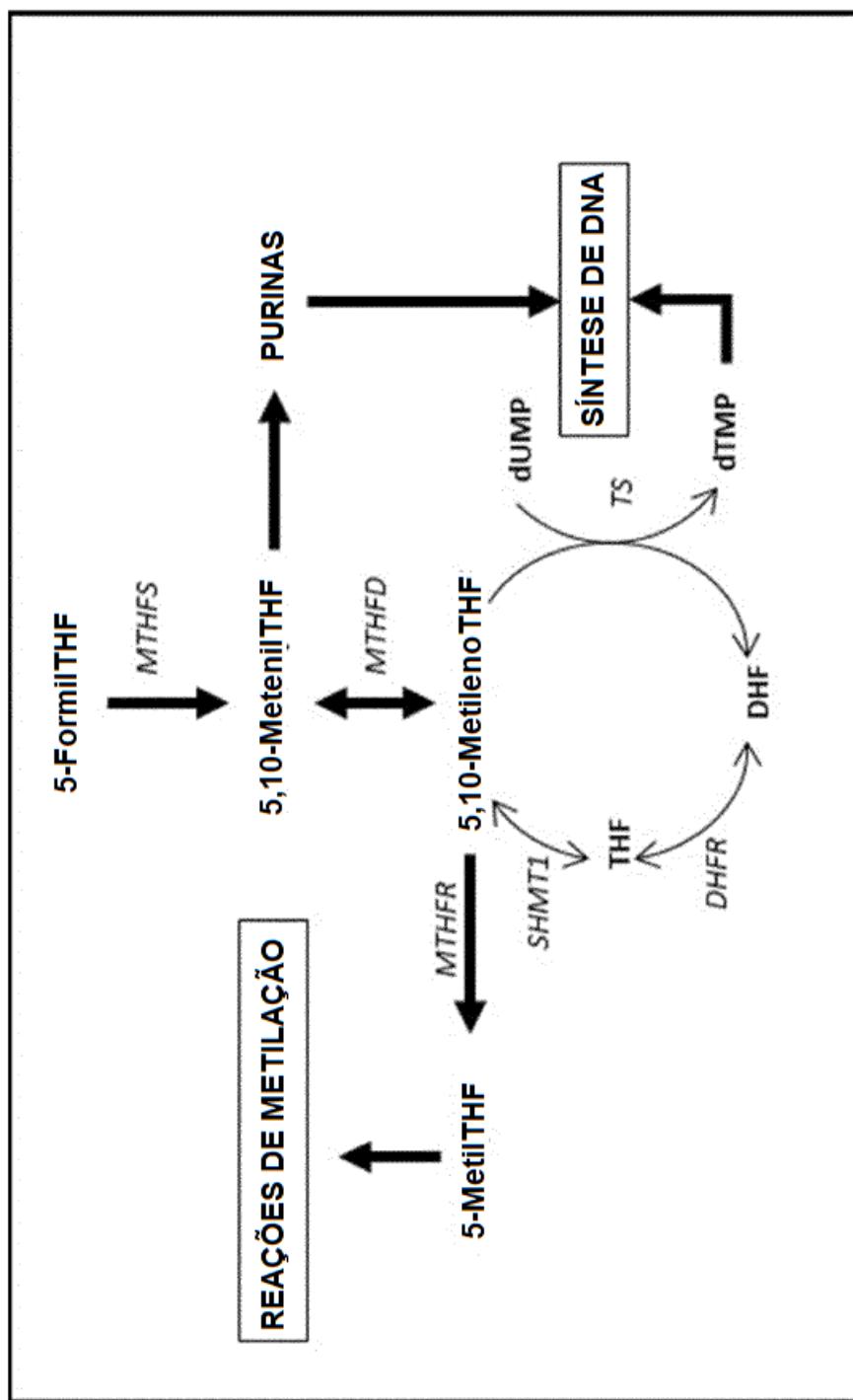
12. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo análogo ou pró-fármaco de 5-FU ser selecionado dentre bases de pirimidina fluoradas, tais como capecitabina (Xeloda), isto é, N4-pentiloxicarbonil-5'-desoxi-5-fluorocitidina, tegafur, 5-fluoro-pirimidinona, UFT, doxifluridina, 2'-desoxi-5-fluorouridina, 5'-desoxi-5-fluorouridina, 1-(2'-oxopropil)-5-FU e alquil-carbonil-5-FU, BOF-A2, fтораfуr(TS-1) e S-1.

13. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO PARA USO NA PREVENÇÃO OU RETARDAMENTO DA PROGRESSÃO DE TUMORES SÓLIDOS QUE INCLUEM CÂNCER EM UM SER HUMANO, caracterizado por compreender realizar e repetir as etapas a) a e), conforme definidas em qualquer uma das reivindicações 1 a 12, ao longo de um período

de tratamento total de pelo menos 8 semanas.

14. [6R]-5,10-METILENO-TETRA-HIDROFOLATO PARA USO NA PREVENÇÃO OU RETARDAMENTO DA PROGRESSÃO DE TUMORES SÓLIDOS EM UM SER HUMANO, de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelas etapas a) a e), conforme definidas em qualquer uma das reivindicações 1 a 12, serem realizadas e repetidas durante um período de tratamento total de pelo menos 16 semanas, e em que nenhuma progressão estatisticamente significativa dos ditos tumores sólidos é observada entre 8 e 16 semanas após início de tratamento.

Figura 1



**Figura 2**

		Doses				Taxa de resposta de acordo com RECIST 1.1 após 8 semanas	Taxa de resposta de acordo com RECIST 1.1 após 16 semanas
Paciente nº	Linha de tratamento	[6R]-MTHF mg/m <sup>2</sup>	5-FU mg/m <sup>2</sup>	Oxaliplatin mg/m <sup>2</sup>	Irinotecano mg/m <sup>2</sup>		
1	1	2 x 30	2 x 500	-	-	0,00	-
2	1	2 x 30	2 x 500	-	-	-13,97	-
3	1	2 x 30	2 x 500	-	-	-27,27	-
4	1	2 x 60	2 x 500	-	-	7,02	-14,04
5	1	2 x 60	2 x 500	-	-	1,92	0,00
6	3	2 x 120	2 x 500	-	-	30,77	-
7	3	2 x 120	2 x 500	-	-	-2,15	-
8	3	2 x 120	2 x 500	-	-	6,03	22,41
9	2	2 x 240	2 x 500	-	-	19,35	38,71
10	1	2 x 240	2 x 500	-	-	-51,22	-51,22
11	2	2 x 240	2 x 500	-	-	-21,43	-
12	2	2 x 30	2 x 500	85	-	-17,98	-
13	2	2 x 30	2 x 500	85	-	-6,85	-6,85
14	2	2 x 30	2 x 500	85	-	-27,27	-
15	2	2 x 60	2 x 500	85	-	-41,86	-18,6*
16	3	2 x 60	2 x 500	85	-	-20,51	-
17	2	2 x 60	2 x 500	85	-	-4,55	-
18	1	2 x 60	2 x 500	85	-	-40,00	-42,50
19	3	2 x 60	2 x 500	85	-	-12,70	-
20	3	2 x 30	2 x 500	85	-	26,00	-
21	1	2 x 30	2 x 500	-	180	-41,86	-
22	2	2 x 30	2 x 500	-	180	14,30	-
23	1	2 x 30	2 x 500	-	180	0,00	3,18
24	5	2 x 30	2 x 500	-	180	-6,56	-
25	3	2 x 60	2 x 500	-	180	18,07	-
26	2	2 x 60	2 x 500	-	180	60,38	-
27	1	2 x 60	2 x 500	-	180	-88,33	-86,67
28	1	1 x 60 <sup>1)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	-31,58	-31,58
29	1	1 x 60 <sup>1)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	-38,46	-60,44
30	2	1 x 60 <sup>1)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	-44,74	-56,14
31	2	1 x 120 <sup>3)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	*)	-
32	2	1 x 120 <sup>3)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	13,95	-
33	2	1 x 120 <sup>3)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	*)	-
35	2	1 x 120 <sup>3)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	*)	-
36	2	1 x 120 <sup>3)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	-1,14	-
37	2	1 x 120 <sup>3)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	0,00	-
38	2	1 x 120 <sup>3)</sup> 2400 <sup>2)</sup>	85	-	-	-8,57	-

Nota: <sup>1)</sup> Dividido em 2 doses de bolos separadas de 30 mg no Dia 1, <sup>2)</sup> 46 horas de infusão

<sup>3)</sup> dividido em 2 doses de bolos separadas de 60 mg no Dia 1, <sup>4)</sup> +bevacizumabe (5 mg/kg)

\*) o surgimento de uma ou mais lesões é considerado Doença Progressiva

**Figura 3**

	<b>CoFactor/5-FU (n=147)</b>	<b>Leucovorina/5-FU (n=148)</b>	<b>Valor P</b>
<b>Pacientes que relatam pelo menos 1 evento adverso hematológico ou gastrointestinal de grau 3 ou maior</b>	23	10	P<0,05
Hematológico	11	7	
Gastrointestinal	12	5	

	<b>CoFactor/5-FU (n=150)</b>	<b>Leucovorina/5-FU (n=150)</b>
<b>Taxa de resposta objetiva</b>	10,7%	13,3%
<b>Sobrevivência Livre de Progressão Médiana (meses)</b>	<b>6,3 meses</b>	<b>6,1 meses</b>
<b>Sobrevivência Médiana Preliminar (meses)</b>	<b>14,7 meses</b>	<b>14,3 meses</b>

RESUMO

COMPOSIÇÃO PARA USO NO TRATAMENTO, PREVENÇÃO OU RETARDAMENTO DA PROGRESSÃO DE TUMORES SÓLIDOS QUE INCLUEM CÂNCER EM UM SER HUMANO

A presente invenção refere-se ao tratamento de tumores sólidos em seres humanos, tal como câncer, especialmente câncer colorretal (CRC), que envolve administrar o adjuvante de folato diastereoisomericamente puro [6R]-5,10-metileno-tetra-hidrofolato em quimioterapia à base de 5-fluorouracila (5-FU).