

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 972 746**

51 Int. Cl.:

A61K 31/665 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.01.2019** **PCT/EP2019/050798**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.07.2019** **WO19141622**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.01.2019** **E 19701467 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.02.2024** **EP 3740286**

54 Título: **Composiciones para eliminar promotores bacterianos del cáncer colorrectal mediante aplicación intraluminal**

30 Prioridad:

17.01.2018 DK PA201870030

14.06.2018 DK PA201870392

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.06.2024

73 Titular/es:

REPONEX PHARMACEUTICALS A/S (100.0%)
Slotsmarken 12, 1.th.
2970 Hørsholm, DK

72 Inventor/es:

UTTENTHAL, LARS OTTO y
BJØRN, TORSTEN

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 972 746 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

Composiciones para eliminar promotores bacterianos del cáncer colorrectal mediante aplicación intraluminal

5 **Campo de la invención**

La presente invención proporciona composiciones que comprenden fosfomicina para aplicación local para eliminar o reducir la colonización o infección de tumores del cáncer colorrectal (CCR) por fusobacterias y otros microorganismos susceptibles y la presencia de una biopelícula bacteriana asociada con tales tumores o su desarrollo. La finalidad de la invención es reducir el crecimiento tumoral y la resistencia a la quimioterapia o a la radioterapia que se asocia a la infección, y reducir la acción procarcinogénica atribuida a la biopelícula. Es relevante para los campos de la oncología y la gastroenterología, así como para otros campos que comprenden la prevención y el tratamiento de los cánceres colorrectales.

15 **Antecedentes de la invención**

El término "fusobacterias" se refiere a miembros del género *Fusobacterium* de bacterias anaerobias Gram negativas, especies de las cuales, incluyendo *F. nucleatum*, se encuentran en la cavidad bucal, donde desempeñan un papel en la enfermedad periodontal. Se ha descubierto que las secuencias genómicas de fusobacterias están enriquecidas en tumores de CCR, con una prominencia de secuencias de ADN relacionadas con *F. nucleatum* (Kostic y col. 2012). También se detectó una sobreabundancia de ARN de *F. nucleatum* en tumores de este tipo (Castellari y col. 2012). Las fusobacterias se dirigen a las células del adenocarcinoma colorrectal mediante su lectina Fap2, que se une específicamente a los residuos de D-galactosa- β (1-3)-N-acetil-D-galactosamina (Gal-GalNAc) de los hidratos de carbono de la superficie de los adenocarcinomas colorrectales y de algunos otros adenocarcinomas. Una vez en el tumor, las fusobacterias pueden potenciar la proliferación celular (Rubinstein y col. 2013; Chen y col. 2017; Yang y col. 2017), crear un entorno inflamatorio favorable para los tumores (Kostic y col. 2013) y proteger a las células cancerosas frente a la destrucción por parte de los linfocitos citolíticos naturales y los linfocitos T infiltrantes de tumor. *F. nucleatum* también promueve la resistencia del CCR a la quimioterapia (Yu y col. 2017) y, debido a que están involucrados mecanismos celulares similares, a la radioterapia. La alta abundancia de fusobacterias en el CCR se correlaciona con un mal pronóstico de la enfermedad (Flanagan y col. 2014). Al mismo tiempo, se han puesto de manifiesto agentes antibacterianos dirigidos específicamente a las fusobacterias para evitar las reacciones adversas de los antibióticos de amplio espectro administrados por vía sistémica.

Fusobacterias tales como *F. nucleatum* también están presentes en biopelículas bacterianas asociadas con tumores de CCR, particularmente con tumores del colon ascendente. En estas biopelículas, también se pueden encontrar bacterias de los géneros *Bacteroides* y *Prevotella* suelen ser las más destacadas, juntos con *Enterobacteriaceae* como *Escherichia coli*, mientras que *Clostridium* spp., actinobacterias y varios bacilos, incluyendo los lactobacilos putativamente protectores, además de las fusobacterias. La biopelícula asociada con los tumores de CCR es característicamente gruesa y continua, invade la capa mucosa más profunda y está en contacto con las células epiteliales del colon, tanto sobre el tumor como en el epitelio normal adyacente. Los tejidos subyacentes a la biopelícula muestran una disminución o alteración del supresor tumoral E-cadherina, una mayor expresión de la citocina proinflamatoria y angiogénica IL-6 y de la proteína Ki-67 asociada a la proliferación, así como la activación de Stat3. Esto apunta a un efecto procarcinogénico de la biopelícula (Dejea y col. 2016). Entre las formas específicas en las que las bacterias presentes en la biopelícula pueden iniciar el CCR se encuentra un efecto mutagénico directo sobre el ADN o la interferencia con la reparación del ADN del hospedador. Este es el caso de los *Bacteroides fragilis* enterotoxigénicos (ETBF), *Enterococcus faecalis* productoras de superóxido, y *E. coli* productora de colibactina. Muchas de las bacterias de la biopelícula pueden potenciar las vías de señalización mediadas por Wnt u otras vías proinflamatorias específicas que habitualmente están mutadas y/o sobreexpresadas en el CCR, como se observa en las cepas bacterianas mencionadas anteriormente y en *F. nucleatum*. También se producen efectos inmunológicos locales de la biopelícula, como lo ilustra la promoción de una respuesta Th17 tumorigénica por parte de ETBF que se ha demostrado en un modelo de ratón (Chung y col. 2018). Es probable que estos mecanismos que promueven el inicio del CCR también desempeñen un papel similar en la progresión del CCR (Drewes y col. 2016). La biopelícula colónica y los tumores de CCR, especialmente tumores del colon ascendente, parecen entrar en una relación simbiótica, por lo que cada componente puede promover la formación y el crecimiento del otro en un círculo vicioso. Un factor de ello es el aumento de la producción de N^1,N^{12} -diacetilpermina, que se origina tanto en la biopelícula como en el tumor (Johnson y col. 2015). Los inventores no desean quedar ligados a teoría alguna, pero consideran que el efecto técnico de la administración local de fosfomicina se debe a la eliminación de la biopelícula procarcinogénica de la mucosa del colon, lo que romperá el círculo vicioso, reducirá el tamaño del tumor de CCR, ayudará a restaurar la susceptibilidad a la quimioterapia y a la radioterapia y tenderá a normalizar las respuestas inmunitarias a los tumores, así como reducirá el inicio de tumores recurrentes. El documento US 2014/107092 divulga el tratamiento del cáncer colorrectal mediante la administración de una cantidad eficaz de un antibiótico eficaz contra las fusobacterias. Sin embargo, no se menciona el uso de fosfomicina.

65 **Sumario de la invención**

Por consiguiente, la presente invención busca atacar la infección fusobacteriana o la colonización de tumores

colorrectales y eliminar la biopelícula bacteriana asociada al CCR proporcionando composiciones farmacéuticas para tratar estas afecciones mediante la administración local de las composiciones en la luz del intestino donde se ubican los tumores o la biopelícula, comprendiendo dichas composiciones esencialmente:

- 5 Una composición que comprende el antibiótico fosfomicina como principio activo para reducir o eliminar la infección o colonización de tumores de cáncer colorrectal por fusobacterias y la biopelícula bacteriana asociada con tales tumores, en donde la composición se administra localmente en la luz intestinal.

10 La composición para usar de acuerdo con el punto anterior, que además comprende uno o más agentes antimicrobianos o antibióticos adicionales como principios activos.

15 La composición para usar de acuerdo con el punto previo, en donde uno o más agentes antimicrobianos o antibióticos adicionales se eligen de una lista no limitante que comprende metronidazol o un carbapenémico tal como ertapenem, meropenem o imipenem.

La composición para usar de acuerdo con los puntos previos, en donde el principio activo fosfomicina está en forma de fosfomicina trometamol o fosfomicina disódica.

20 La composición para usar de acuerdo con los puntos previos, en donde los principios activos se formulan como un polvo o granulado seco a disolver en un medio acuoso antes de su administración en la luz intestinal.

25 La composición de acuerdo con el punto previo, en donde el polvo o granulado seco, y/o el medio acuoso para disolución, contiene una o más sustancias adicionales para promover la penetración de los principios activos en los tumores y la biopelícula, siendo dichas sustancias adicionales elegidas de la lista de dimetilsulfóxido, glicofurol, polioxietilen lauril éter, taurocolato de sodio y caprato de sodio.

En la siguiente descripción detallada de la invención, se darán detalles del alcance de la invención y su ejecución práctica.

30 Descripción detallada de la invención

La finalidad de la presente invención es proporcionar un medio para reducir o eliminar la colonización o infección de tumores del cáncer colorrectal por fusobacterias, así como eliminar la biopelícula bacteriana asociada con estos tumores. Esto se logra mediante la administración local directa de una solución de antibióticos apropiados en la luz intestinal a un nivel que garantice la aplicación de la solución al sitio del tumor y/o biopelícula. La colonización de los tumores por fusobacterias se asocia con un mayor crecimiento tumoral y resistencia tanto a los mecanismos inmunitarios antitumorales endógenos como a las terapias antitumorales exógenas. Se han dilucidado algunos de los mecanismos mediante los cuales se logran estos efectos. Por lo tanto, se propone que la eliminación o reducción drástica de la colonización por fusobacterias de estos tumores revertirá estos efectos adversos y aumentará la eficacia de otras terapias contra el cáncer dirigidas a estos tumores. La eliminación de la biopelícula bacteriana asociada con estos tumores (es decir, que recubre el tumor y las áreas adyacentes del epitelio colónico normal) también ejercerá estos efectos, además de eliminar la acción procarcinogénica de la biopelícula que puede promover la recurrencia del tumor y el crecimiento del tumor.

45 La administración local de antibióticos a través de la luz intestinal, p. ej., mediante aplicación a través de un endoscopio o catéter o, en algunos casos, como enema de retención, dará como resultado una concentración de antibióticos muy alta en la superficie luminal del tumor y la biopelícula. Los antibióticos penetrarán en las células tumorales donde se encuentran las fusobacterias y en la biopelícula suprayacente y adyacente para alcanzar concentraciones bactericidas, mientras que al mismo tiempo se absorben poco en la sangre, de modo que se reduce sustancialmente cualquier efecto secundario sistémico de los antibióticos.

50 El análisis cuantitativo por reacción en cadena de la polimerasa del ADN de *F. nucleatum* en los tumores demuestra que las bacterias se concentran en la parte superficial luminal de los tumores (Yamamura y col. 2017). El tratamiento antibacteriano mediante la aplicación de altas concentraciones de antibiótico desde el lado luminal debería ser particularmente eficaz para eliminar la mayor parte de la carga bacteriana y al mismo tiempo minimizar las reacciones adversas asociadas con la administración sistémica convencional del antibiótico de amplio espectro. La misma consideración se aplica a la eliminación de la biopelícula bacteriana suprayacente y adyacente.

60 Principios activos de las composiciones de la invención

Las composiciones de acuerdo con la presente invención comprenden esencialmente el antibiótico fosfomicina, bien en solitario o en combinación con uno o más antibióticos adicionales, que pueden elegirse de una lista no limitativa que comprende metronidazol y carbapenémicos tales como ertapenem, meropenem e imipenem.

65

Fosfomicina

Fosfomicina es la denominación común internacional de un antibiótico de amplio espectro aislado y caracterizado en 1969 a partir de cepas de *Streptomyces fradiae* con el nombre de fosfomicina o fosfonomicina (Hendlin y col. 1969). Se determinó que su estructura era ácido (-)(IR, 2S)-1,2-epoxipropilfosfónico (Christensen y col. 1969), con la denominación sistemática (IUPAC) ácido [(2R,3S)-3-metiloxiran-2-il]fosfónico y un peso de fórmula de 138,1 Da. La fosfomicina es bactericida e inhibe la biosíntesis de la pared celular bacteriana al inactivar la enzima UDP-N-acetilglucosamina-3-enolpiruviltransferasa, también conocida como MurA (Brown y col. 1995). Esta enzima cataliza el paso comprometido en la biosíntesis de peptidoglicano, la ligación del fosfoenolpiruvato al grupo 3'-hidroxilo de la UDP-N-acetilglucosamina para formar ácido N-acetilmurámico. La fosfomicina es un análogo del fosfoenolpiruvato que inhibe MurA alquilando un residuo de cisteína del sitio activo. El antibiótico entra en la célula bacteriana a través del transportador de glicerofosfato.

Dado este mecanismo de acción, la fosfomicina tiene un amplio espectro bactericida, siendo activa contra géneros aerobios tales como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Neisseria*, *Escherichia*, *Proteus* (indol negativo), *Serratia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*, y *Vibrio*, menos activa frente a *Proteus* spp. indol positivo, *Klebsiella* y *Enterobacter* spp. De particular relevancia para la presente invención, es activa frente al género anaerobio *Fusobacterium*, así como los géneros anaerobios *Peptostreptococcus* (incluyendo *Peptoniphilus*, *Fingoldia* y *Anaerococcus*). Sin embargo, es inactiva a frente al grupo de bacterias anaerobias *Bacteroides fragilis*.

Existe una baja prevalencia de resistencia bacteriana a la fosfomicina en la comunidad, y los estudios sobre la prevalencia de bacterias resistentes después de la introducción de fosfomicina no han mostrado ningún aumento o sólo un aumento modesto en la prevalencia de organismos resistentes. Sin embargo, la exposición prolongada al antibiótico puede permitir que las bacterias desarrollen resistencia mediante la selección de mutantes que carecen de la vía del transportador de glicerofosfato. Los mecanismos alternativos de resistencia implican la pérdida del transportador inducible de fosfato de hexosa, una mutación Cys-Asp en MurA, o la adquisición de plásmidos que codifican las enzimas inactivadoras de fosfomicina fosA y fosB (además de fosX cromosómica en *Listeria monocytogenes*). Las cepas mutantes pueden, sin embargo, mostrar también una patogenicidad reducida (Karageorgopoulos y col. 2012). Esto puede explicar por qué se observa la emergencia de resistencia bacteriana tras una exposición prolongada *in vitro*, pero mucho menos frecuente *in vivo*. La aparición de cepas bacterianas resistentes en ensayos clínicos controlados de fosfomicina administrada por vía oral o intravenosa ha sido del 3,0 % en general, con un máximo del 15 % para *Pseudomonas aeruginosa*. En general, la fosfomicina se considera una valiosa adición al armamento terapéutico contra los organismos resistentes a múltiples fármacos.

Se ha demostrado que la fosfomicina tiene la capacidad de favorecer la fagocitosis y actuar como inmunomodulador. Es acumulada por los leucocitos polimorfonucleares hasta alcanzar concentraciones que duplican las del fluido extracelular, pero no afecta a sus funciones celulares, al tiempo que ejerce un efecto bactericida sobre *Staphylococcus aureus* (Höger y col. 1985).

Con respecto a su absorción por las células de la mucosa intestinal, Martínez y col. (2013) han demostrado la rápida absorción de fosfomicina en células IPEC-J2 expuestas a fosfomicina cálcica a 580 µg/ml, hasta alcanzar una concentración intracelular cercana a 30 µg/ml en 15 minutos. Estas concentraciones tan elevadas de fosfomicina son difíciles de alcanzar con la ruta de administración sistémica estándar. Por lo tanto, se requieren concentraciones mucho más altas de fosfomicina para destruir las fusobacterias en las células de cáncer colorrectal. De acuerdo con la invención, tales concentraciones se alcanzan fácilmente con una solución de fosfomicina administrada localmente.

Se sabe que la fosfomicina penetra fácilmente a través de las barreras tisulares y en la biopelícula bacteriana (Reffert y Smith 2014), de modo que altas concentraciones bactericidas de fosfomicina serán resultado de la aplicación directa de la solución de fosfomicina a la biopelícula bacteriana que recubre y es adyacente a los tumores colorrectales. La fosfomicina inhibe la adhesión a células epiteliales de diversas especies bacterianas, incluyendo aquellas involucradas en la formación de biopelículas (Gobernado 2003). La fosfomicina también puede romper biopelículas para mejorar la permeabilidad de otros antibióticos,

Las principales reacciones adversas de la fosfomicina son irritación gástrica por la fosfomicina disódica administrada por vía oral, evidencia de alergia en forma de erupciones cutáneas transitorias (0,3 % de los casos) y eosinofilia (0,2 %), así como aumento transitorio de las enzimas hepáticas (0,3 % de los casos) por la administración sistémica de fosfomicina (Gobernado 2003). En general, sin embargo, la fosfomicina muestra una toxicidad notablemente baja, de modo que cuando se administran altas dosis de fosfomicina disódica por vía sistémica, es la carga de sodio el factor limitante de la dosis.

La fosfomicina muestra un considerable sinergismo en el efecto bactericida sobre un gran número de cepas de organismos de los géneros susceptibles mencionados, cuando se usa en combinación con una gran cantidad de antibióticos del tipo penicilina, cefalosporina, aminoglucósido, macrólido y lincosamida. Si bien los primeros estudios mostraron un efecto sinérgico en aproximadamente el 70-100 % de las cepas analizadas para diversas combinaciones de antibióticos, estudios posteriores más extensos mostraron tasas de sinergia del 36-74 %. Las cepas restantes mostraron efectos meramente aditivos y sólo se observó un efecto inhibitorio en una o dos combinaciones individuales de antibióticos sobre una cepa bacteriana individual (Gobernado 2003). El hecho de que la fosfomicina muestre sinergia con muchos antibióticos individuales y, de hecho, anule la toxicidad de muchos otros antibióticos, incluyendo

la nefrotoxicidad y ototoxicidad de los aminoglucósidos, favorece el uso de la fosfomicina en combinación con otros antibióticos para producir una acción bactericida potente y compensar cualquier desarrollo de resistencia a la fosfomicina durante un tratamiento más prolongado.

5 Las principales formas de fosfomicina que entran dentro del alcance de la presente invención son:

i) Fosfomicina disódica, peso de la fórmula 182,0 Da, pH de la solución al 5 % 9,0-10,5. Esta sal es higroscópica, altamente soluble en agua y muestra una alta biodisponibilidad, pero es localmente irritante si no se neutraliza.

10 ii) Fosfomicina cálcica monohidrato, peso de la fórmula 194,1 Da, pH de la solución al 0,4 % 8,1-9,6. Esta sal es poco soluble en agua y no higroscópica, pero es menos irritante para el estómago cuando se usa para tratamiento oral, cuando su biodisponibilidad en términos de entrada en la circulación sistémica puede ser tan baja como el 12 % (Bergan 1990).

15 iii) Fosfomicina trometamol, peso de la fórmula 259,2 Da, pH de la solución al 5 % 3,5-5,5. Esta sal es muy soluble en agua y es bien tolerada cuando se administra por vía oral, cuando muestra una biodisponibilidad de aproximadamente el 40 %.

20 Cuando en el presente documento se usa la denominación "fosfomicina", se refiere a una sal inorgánica u orgánica de fosfomicina, como se ejemplifica en las formas principales anteriores, y la dosis de fosfomicina se refiere a la cantidad de la forma ácida libre de fosfomicina presente en la sal.

La forma preferida de fosfomicina para las composiciones de la presente invención es fosfomicina trometamol, que muestra estabilidad a largo plazo como un granulado fácilmente soluble cuando se almacena en bolsitas selladas a temperatura ambiente. Sin embargo, también se puede usar fosfomicina disódica, que requiere almacenamiento en viales sellados debido a su marcada propiedad higroscópica.

25 Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden comprender fosfomicina de modo que las dosis unitarias estén en el intervalo de 400 miligramos a 4 gramos.

30 *Metronidazol*

Este antibiótico semisintético, que es activo contra una serie de bacterias anaerobias, incluidas las bacterias del grupo *B. fragilis* y *Fusobacterium* spp., es bien conocido en la técnica anterior. Se ha usado sistémicamente en combinación con fosfomicina sistémica para la profilaxis frente a la infección de heridas tras una cirugía abdominal. La penetración intracelular del metronidazol parece realizarse por difusión pasiva rápida, de modo que los niveles intracelulares se aproximan al equilibrio con los niveles extracelulares en 15 minutos (Hand y col. 1987). Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden comprender metronidazol de modo que las dosis unitarias están en el intervalo de 100 miligramos a 1 gramo.

40 *Carbapenémicos*

Los carbapenémicos son miembros de la clase de antibióticos betalactámicos, lo que, al igual que las penicilinas y cefalosporinas, ejercen una acción bactericida inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana por un mecanismo diferente al de la fosfomicina. En consecuencia, los antibióticos betalactámicos, incluyendo los carbapenémicos, muestran de manera característica una acción bactericida sinérgica con la fosfomicina en la mayoría de las especies bacterianas contra las que ambos tipos de antibióticos son activos. Sin embargo, los carbapenémicos presentan un espectro de actividad más amplio que la mayoría de las penicilinas y cefalosporinas, siendo activos contra las bacterias anaerobias tales como el grupo *B. fragilis*, *Prevotella* spp. y *Fusobacterium* spp. Por consiguiente, pueden usarse en lugar de metronidazol para ejercer una acción bactericida sobre las bacterias anaerobias que son en gran medida insensibles a la fosfomicina. En cuanto a la penetración intracelular de los carbapenémicos, las concentraciones intracelulares bactericidas de ertapenem en una línea celular de macrófagos de ratón se alcanzan a concentraciones extracelulares tan bajas como 15 µg/ml (Tang y col. 2012), y las relaciones de concentración celular a extracelular de meropenem en macrófagos humanos fueron siempre altas (intervalo 3-12) a concentraciones extracelulares que varían de 0,125 a 1 µg/ml (Cuffini y col. 1993). Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden comprender ertapenem, meropenem o imipenem de manera que las dosis unitarias están en el intervalo de 100 miligramos a 1 gramo.

Indicaciones médicas

60 La indicación principal para el uso de las composiciones descritas es la presencia de uno o más tumores colorrectales que surgen de la mucosa colónica o rectal y/o la presencia de una biopelícula bacteriana que recubre la mucosa colónica o rectal, esté o no asociada la biopelícula a un adenocarcinoma, un adenoma o pólipo o displasia de la mucosa. La indicación normalmente se diagnosticará en relación con la colonoscopia. El tratamiento con las composiciones descritas normalmente se puede administrar a través del endoscopio durante la misma sesión o en un procedimiento posterior mediante la instilación intraluminal de una solución de la composición en la sección del intestino donde se observa la patología de la mucosa. El tratamiento inicial puede ir seguido de otros tratamientos a discreción del médico tratante.

También se puede proporcionar una indicación de tratamiento detectando marcadores urinarios, fecales, sanguíneos o tisulares de biopelículas procarcinogénicas u organismos impulsores. En la actualidad, tales marcadores podrían ser la presencia de *E. coli* productora de colibactina, *B. fragilis* enterotoxigénico, *F. nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*, así como otros microbios, especialmente de la microbiota bucal. Muchos marcadores son objeto de investigación, pero ninguno ha mostrado aún una sensibilidad o especificidad diagnóstica lo suficientemente alta como para ser un diagnóstico independiente del CCR o de la biopelícula colónica, por lo que actualmente tienen una función de cribado para seleccionar sujetos para colonoscopia. Entre los marcadores con una sensibilidad y especificidad diagnósticas prometedoras se encuentra la N^1, N^{12} -diacetilpermina urinaria, lo que, como se ha indicado anteriormente, se produce en mayores cantidades por la biopelícula bacteriana asociada al CCR.

Si se sabe o se sospecha que un tumor ha penetrado a través de la pared intestinal o ha metastatizado en ganglios linfáticos o tejidos remotos, el médico tratante puede decidir complementar el tratamiento antibiótico local con un tratamiento antibiótico sistémico, ya que pueden encontrarse microorganismos vivos en las metástasis de los carcinomas colorrectales.

Los tumores y las biopelículas presentes en el recto y el colon sigmoide, debido a su ubicación, ofrecen la posibilidad de recibir tratamiento con las composiciones compuestas como enemas de retención. En determinadas circunstancias, pueden usarse volúmenes mayores de enemas que contengan las composiciones para tratar regiones del colon más alejadas del recto.

El uso de las composiciones descritas también puede estar indicado durante la radioterapia o la quimioterapia neoadyuvante, p. ej., con bevacizumab y/o fármacos citotóxicos.

Formulaciones

En una realización preferida, la composición comprende fosfomicina trometamol suministrada como un granulado seco a disolver en un vehículo farmacéuticamente aceptable suministrado, preferentemente un vehículo o diluyente acuoso. El vehículo puede ser simplemente agua o agua que contiene sustancias auxiliares o adyuvantes farmacéuticamente aceptables, que incluyen, sin limitación, agentes tamponantes y/o agentes ajustadores de la tonicidad para asegurar un pH neutro y la isotonicidad de la solución de fosfomicina. En otra realización, la composición comprende fosfomicina disódica, tal como fosfomicina disódica formulada para inyección intravenosa, suministrada como polvo liofilizado en un vial de vidrio con tapa. De manera similar se disuelve en un vehículo o diluyente acuoso farmacéuticamente aceptable.

En una realización adicional, la composición comprende fosfomicina trometamol y un antibiótico adicional, tal como metronidazol, o un carbapenémico tal como ertapenem, meropenem o imipenem, ambos antibióticos siendo suministrados como un polvo o granulado seco a disolver en el vehículo acuoso.

El valor del pH de las soluciones resultantes de las formulaciones de acuerdo con la presente invención puede tener un pH de entre 4 y 8, preferentemente entre 6,5 y 7,5 y lo más preferentemente entre 7 y 7,5. Los polvos o granulados de antibióticos y los diluyentes acuosos suministrados pueden contener individualmente agentes tamponantes y/o agentes de ajuste de la tonicidad para asegurar un pH neutro y una isotonicidad de la solución de antibióticos combinados. También pueden contener uno o más agentes espesantes biocompatibles aprobados que no se unen a los principios activos de la composición, tales como hidroxipropilmetilcelulosa o un gran número de otros agentes espesantes biocompatibles conocidos en la técnica, con el fin de lograr una solución de viscosidad óptima para una administración controlada y adhesión a la mucosa del colon.

Los diluyentes acuosos pueden incluir adyuvantes, tales como dimetilsulfóxido (DMSO) hasta un 2 % en peso, y/o glicofuroil hasta un 1 % en peso, para promover la absorción de los principios activos por el tumor. También pueden usarse otros adyuvantes que cumplan una función similar junto con el DMSO o el glicofuroil, o en sustitución de los mismos; estos pueden seleccionarse de una lista que comprende polioxietilén lauril éter, taurocolato de sodio y caprato de sodio. Estos adyuvantes estarán presentes en concentraciones inferiores al 1 % en peso.

En una realización, una preparación seca de una composición de acuerdo con la presente invención puede estar preenvasada, por ejemplo, en unidades monodosis, para ser disuelta inmediatamente antes de la administración en el diluyente acuoso, que también se suministra preenvasado en viales monodosis.

Administración

Las composiciones de la presente invención se pueden aplicar mediante métodos de administración usados convencionalmente en la técnica para administración local en la luz del intestino en la región de un tumor de CCR de la mucosa, adenoma o región de displasia mucosa, o en la región de biopelícula bacteriana localizada en el colon o el recto.

Si el colon y el recto han sido limpiados de materia fecal mediante un régimen estándar de preparación intestinal para

colonoscopia o cirugía, como la ingestión o administración oral de grandes volúmenes de líquido que contenga una concentración adecuada de polietilenglicol, como macrogol 3350 o 4000, con o sin electrolitos, y el tumor o biopelícula se localiza en el recto o en la parte inferior del colon sigmoide, se administra una solución de la composición en forma de enema de retención en la luz intestinal a nivel del tumor. En determinadas circunstancias, la composición puede administrarse en un volumen mayor de enema para el tratamiento de una patología en partes más proximales del colon.

Para tumores y biopelículas ubicados en partes más proximales del colon, la solución de la composición se puede administrar al nivel de la patología durante la colonoscopia.

Si, en circunstancias excepcionales, debe tratarse un tumor rectal o sigmoideo cuando no se ha realizado ninguna preparación intestinal, la administración de una solución de la composición puede efectuarse después de haber vaciado primero el intestino administrando un laxante y a continuación dando un enema colónico para limpiar el intestino;

Para tumores en el recto y el colon sigmoide inferior, el volumen del enema de retención es de 50 ml a 100 ml. Se indica al paciente que se tumbe durante 5 minutos de cada lado, boca abajo y boca arriba, y retener el enema durante al menos 15 minutos, en caso de que fuese posible. Cuando el tumor se localiza en partes más proximales del colon, pueden administrarse enemas de mayor volumen, o la solución de la composición puede instilarse en la zona tumoral durante la colonoscopia, como se ha indicado anteriormente.

Posología

Si bien no se pretende que la invención sea prescriptiva para la elección por parte del clínico de las dosis adecuadas para el caso individual, se aconseja que la composición se formule de manera que una dosis unitaria única de fosfomicina en las presentes composiciones esté en el intervalo de 400 miligramos a 4 gramos. La dosis unitaria única de metronidazol o un carbapenémico cuando se usa como antibiótico adicional en estas composiciones puede estar en el intervalo de 100 miligramos a 1 gramo. Estas dosis pueden superarse a criterio del médico, por ejemplo, si se va a administrar un gran volumen de enema.

Una dosis unitaria típica puede, a modo de ejemplo, consistir en 1 gramo de fosfomicina disuelto en 50 ml de diluyente acuoso, es decir, constituyendo una solución de aproximadamente un 2 % en peso/volumen. Si se requiere metronidazol o un carbapenémico como antibiótico adicional, puede añadirse como, por ejemplo, 250 miligramos en el mismo diluyente, es decir, constituyendo una solución de aproximadamente un 0,5 % en peso/volumen.

La dosis unitaria anterior puede aumentarse proporcionalmente en dosis y volumen, manteniendo las mismas concentraciones de fosfomicina y, si está presente, un antibiótico adicional mencionado anteriormente, hasta un volumen máximo de 200 ml de diluyente que contenga 4 gramos de fosfomicina, y, si está presente, 1 gramo de dicho antibiótico adicional.

Si se requiere un volumen mayor de solución para una dosis unitaria, ésta puede prepararse diluyendo una dosis unitaria como la descrita anteriormente con solución salina isotónica, sin aumentar la cantidad de fosfomicina a administrar por encima de 4 gramos, ni la cantidad de antibiótico adicional a administrar por encima de 1 gramo. Como alternativa, la dosis de los antibióticos puede aumentarse a criterio del médico, hasta un máximo de 20 g de fosfomicina en un litro en un día, asegurándose de que la solución sea isotónica.

Una dosis puede administrarse preferentemente una vez al día o, si el médico tratante lo considera necesario y factible, dos veces al día, de modo que el paciente reciba dos dosis unitarias típicas al día en dos ocasiones distintas, o incluso tres veces al día, de modo que el paciente reciba tres dosis unitarias típicas al día en tres ocasiones distintas, y excepcionalmente cuatro veces al día, de modo que el paciente reciba cuatro dosis unitarias típicas al día en cuatro ocasiones distintas, cinco veces al día o seis veces al día.

La duración del régimen de administración anterior normalmente será corta, variando de 1 día a 2 días, pero si el médico tratante considera necesaria una prolongación del tratamiento para lograr el resultado deseado, el régimen de dosificación puede ampliarse hasta 14 días, como en el intervalo de 3 días a 5 días, por ejemplo 4 días, o en el intervalo de 5 a 7 días, por ejemplo 6 días, o en el intervalo de 7 días a 14 días. El tratamiento también puede administrarse durante 1 o 2 días, seguido de una interrupción y, a continuación, repetición al cabo de una semana o quince días. Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden comprender fosfomicina de modo que las dosis unitarias están normalmente en el intervalo de 400 miligramos a 4 gramos disueltas en un volumen de diluyente acuoso en el intervalo de 20 ml a 200 ml.

Preferentemente, una dosis unitaria puede contener aproximadamente del 2 % al 2,5 % en peso/volumen de los principios activos totales en una solución. Preferentemente, una dosis unitaria está presente en una solución isotónica. En algunas realizaciones, las composiciones de la invención están destinadas a administración una o varias veces, tal como dos veces, tres veces o cuatro veces, después de lo cual se interrumpe el tratamiento y sólo se reanuda si el médico responsable lo requiere.

Métodos de tratamiento

La presente divulgación presenta métodos para reducir o eliminar la infección o colonización de cánceres colorrectales por fusobacterias, así como para eliminar la biopelícula bacteriana colónica, usando la administración local de las composiciones de la invención en el intestino.

Bibliografía

Bergan T (1990) Degree of absorption, pharmacokinetics of fosfomycin trometamol and duration of urinary antibacterial activity. *Infection* 18 Supl 2:S65-S69.

Brown ED, Vivas EI, Walsh CT, Kolter R (1995) MurA (MurZ), the enzyme that catalyzes the first committed step in peptidoglycan biosynthesis, is essential in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 177:4194-4197.

Castellari M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, Barnes R, Watson P, Allen-Vercoe E, Moore RA, Holt RA (2012) *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 22:299-306.

Chen Y, Peng Y, Yu J, Chen T, Wu Y, Shi L, Li Q, Wu J, Fu X (2017). Invasive *Fusobacterium nucleatum* activates beta-catenin signaling in colorectal cancer via a TLR4/P-PAK1 cascade. *Oncotarget* 8:31802-31814.

Christensen BG, Leanza WJ, Beattie TR, Patchett AA, Arison BH, Ormond RE, Kuehl FA Jr, Albers-Schonberg G, Jardeztzky O (1969) Phosphonomycin: structure and synthesis. *Science* 166:123-125.

Chung L, Thiele Orberg E, Geis AL, Chan JL, Fu K, DeStefano Shields CE, Dejea CM, Fathi P, Chen J, Finard BB, Tam AJ, McAllister F, Fan H, Wu X, Ganguly S, Lebid A, Metz P, Van Meerbeke SW, Huso DL, Wick EC, Pardoll DM, Wan F, Wu S., Sears CL, Housseau F (2018) *Bacteroides fragilis* toxin coordinates a pro-carcinogenic inflammatory cascade via targeting of colonic epithelial cells. *Cell Host Microbe* 23:203-214.

Dejea CM, Sears CL (2016) Do biofilms confer a pro-carcinogenic state? *Gut Microbes* 7:54-57.

Drewes JL, Housseau F, Sears CL (2016) Sporadic colorectal cancer: microbial contributors to disease prevention, development and therapy. *Br J Cancer* 115:273-280.

Flanagan L, Schmid J, Ebert M, Soucek P, Kunicka T, Liska V, Bruha J, Neary P, Dezeuw N, Tommasino M, Jenab M, Prehn JH, Hughes DJ (2014) *Fusobacterium nucleatum* associates with stages of colorectal neoplasia development, colorectal cancer and disease outcome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 33:1381-1390.

Gobernado M (2003) Fosfomicina. *Rev Esp Quimioter* 16:15-40.

Hand WL, King-Thompson N, Holman JW (1987) Entry of roxithromycin (RU 965), imipenem, cefotaxime, trimethoprim, and metronidazole into human polymorphonuclear leukocytes. *Antimicrob Agents Chemother* 31:1553-1557.

Hendlin D, Stapley EO, Jackson M, Wallick H, Miller AK, Wolf FJ, Miller TW, Chalet L, Kahan FM, Foltz EL, Woodruff HB, Mata JM, Hernandez S, Mochales S (1969) Phosphonomycin, a new antibiotic produced by strains of streptomycetes. *Science* 166:122-123.

Höger PH, Seger RA, Schaad UB, Hitzig WH (1985) Chronic granulomatous disease: uptake and intracellular activity of fosfomicin in granulocytes. *Pediatr Res* 19:38-44.

Johnson CH, Dejea CM, Edler D, Hoang LT, Santidrian AF, Felding BH, Ivanisevic J, Cho K, Wick EC, Hechenbleikner EM, Uritboonthai W, Goetz L, Casero RA Jr, Pardoll D8, White JR, Patti GJ, Sears CL, Siuzdak G (2015) Metabolism links bacterial biofilms and colon carcinogenesis. *Cell Metab* 21:891-897.

Karageorgopoulos DE, Wang R, Yu XH, Falagas ME (2012) Fosfomicina: evaluation of the published evidence on the emergence of antimicrobial resistance in Gram-negative pathogens. *J Antimicrob Chemother* 67:255-268.

Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, Ojesina AI, Jung J, Bass AJ, Tabernero J, Baselga J, Liu C, Shivdasani RA, Ogino S, Birren BW, Huttenhower C, Garrett WS, Meyerson M (2012) Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res* 22:292-298.

Martinez G, Pérez DS, Soraci AL, Tapia MO (2013) Penetration of fosfomicin into IPEC-J2 cells in the presence or absence of deoxynivalenol. *PLoS One* 8(9):e75068.

Reffert JL, Smith WJ (2014) Fosfomycin for the treatment of resistant gram-negative bacterial infections. Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy* 34:845-857.

5 Rubinstein MR, Wang X, Liu W, Hao Y, Cai G, Han YW (2013) *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe* 14:195-206.

10 Yamamura K, Baba Y, Miyake K, Nakamura K, Shigaki H, Mima K, Kurashige J, Ishimoto T, Iwatsuki M, Sakamoto Y, Yamashita Y, Yoshida N, Watanabe M, Baba H (2017) *Fusobacterium nucleatum* in gastroenterological cancer: Evaluation of measurement methods using quantitative polymerase chain reaction and a literature review. *Oncol Lett* 14:6373-6378.

15 Yang Y, Weng W, Peng J, Hong L, Yang L, Toiyama Y, Gao R, Liu M, Yin M, Pan C, Li H, Guo B, Zhu Q, Wei Q, Moyer MP, Wang P, Cai S, Goel A, Qin H, Ma Y (2017) *Fusobacterium nucleatum* increases proliferation of colorectal cancer cells and tumor development in mice by activating Toll-like receptor 4 signaling to nuclear factor- κ B, and up-regulating expression of microRNA-21. *Gastroenterology* 152:851-866.

Yu T, Guo F, Yu Y, Sun T, Ma D, Han J, Qian Y, Kryczek I, Sun D, Nagarsheth N, Chen Y, Chen H, Hong J, Zou W, Fang JY (2017) *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy. *Cell* 170:548-563.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende fosfomicina como principio activo para usar en la reducción o eliminación de la infección o colonización de tumores del cáncer colorrectal por fusobacterias, incluyendo *Fusobacterium nucleatum*, y la biopelícula bacteriana asociada con tales tumores, en donde la composición se administra localmente en la luz intestinal.
- 10 2. La composición para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición además comprende uno o más agentes antimicrobianos o antibióticos adicionales como principios activos.
3. La composición para usar de acuerdo con la reivindicación 2 anterior, en donde los uno o más agentes antimicrobianos o antibióticos adicionales se eligen de una lista que comprende metronidazol o un carbapenémico tal como ertapenem, meropenem o imipenem.
- 15 4. La composición para usar de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3, en donde el principio activo fosfomicina está en forma de fosfomicina trometamol.
5. La composición para usar de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3, en donde el principio activo fosfomicina está en forma de fosfomicina disódica.
- 20 6. La composición para usar de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5 anteriores, en donde los principios activos se formulan como un polvo o granulado seco a disolver en un medio acuoso antes de su administración en la luz intestinal.
- 25 7. La composición para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicha administración local es un enema de retención o un enema de mayor volumen.
8. La composición para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicha administración local se realiza a nivel del tumor o de la biopelícula bacteriana mediante un colonoscopio.
- 30 9. Una composición para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el polvo o granulado seco, y/o el medio acuoso para disolución, contiene una o más sustancias adicionales elegidas de la lista de dimetilsulfóxido, glicofurol, polioxietilen lauril éter, taurocolato de sodio y caprato de sodio.
- 35 10. La composición para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición se administra durante radioterapia o quimioterapia neoadyuvante, p. ej., con bevacizumab y/o fármacos citotóxicos.
11. Una composición para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición se administra en combinación con la administración sistémica de antibióticos para reducir o eliminar fusobacterias u otros microorganismos vivos de células tumorales o de metástasis distantes de la pared intestinal.