

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 377**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/513** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.05.2015 PCT/GB2015/051438**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.11.2016 WO16181093**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.05.2015 E 15726258 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.04.2018 EP 3197456**

54 Título: **Tratamientos contra el cáncer**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**17.05.2018**

73 Titular/es:  
**NUCANA PLC (100.0%)**  
**77-78 Cannon Street**  
**London EC4N 6AF, GB**

72 Inventor/es:  
**GRIFFITH, HUGH;**  
**MCGUIGAN, CHRIS y**  
**PEPPER, CHRIS**

74 Agente/Representante:  
**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 668 377 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

Tratamientos contra el cáncer

Campo de la invención

5 La invención se refiere a usos y procedimientos médicos para dirigir las células madre cancerosas, particularmente en el tratamiento del cáncer. La presente invención también se refiere a usos y procedimientos médicos para el tratamiento del cáncer recurrente o refractario en pacientes humanos. La divulgación proporciona procedimientos de direccionamiento de pacientes que se beneficiarán del tratamiento del cáncer a través de los usos o procedimientos médicos de tratamiento de la invención.

Introducción

10 La supuesta existencia de una célula madre de cáncer se ha sugerido en muchos cánceres humanos que incluyen leucemias y tumores sólidos. La hipótesis de la célula madre cancerosas considera que solo una pequeña subpoblación de células tumorales es responsable de la formación y el mantenimiento de la mayor parte del tumor. El surgimiento de este concepto se remonta al trabajo de Lapidot *et al.* (1994), quien mostró evidencia de que solo un pequeño porcentaje de células de leucemia mieloide aguda tenían la capacidad de iniciar la leucemia en ratones.

15 Se demostró que estas células expresan marcadores de superficie celular similares (CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup>) a las células madre hematopoyéticas normales, lo que implica que se puede producir una organización jerárquica similar en los tumores. Posteriormente, las células madre cancerosas se han identificado en una amplia gama de tumores sólidos, incluidos los de mama, pulmón, colon, próstata, ovario, piel y páncreas.

20 Los enfoques anticáncer convencionales se dirigen predominantemente a poblaciones de tumores a granel. Tales estrategias a menudo tienen una eficacia limitada debido a la resistencia a los fármacos intrínseca o adquirida y/o la resistencia a la radiación ionizante, por lo que la recaída y el surgimiento de resistencia a los fármacos son características comunes de muchos cánceres. Los mecanismos de resistencia terapéutica incluyen un mayor reconocimiento y reparación del daño en el ADN inducido por la terapia, control del punto de control del ciclo celular alterado, deterioro del funcionamiento de las vías apoptóticas y reducción de la acumulación del fármaco como

25 resultado del aumento de la expresión de transportadores ABC que los fármacos de flujo. Han surgido pruebas de que las células madre cancerosas tienen una mayor resistencia a la quimioterapia y la radioterapia y, a menudo, se enriquecen en pacientes que recaen. Se ha informado quimio resistencia sobre células madre cancerosas manifiesta en leucemias humanas, en melanoma maligno y en diversos tumores sólidos, incluidos cánceres de mama, páncreas y colorrectales.

30 Se ha demostrado que los fenotipos y funciones específicas de las células madre cancerosas contribuyen a la tumorigenicidad, la progresión del cáncer y la resistencia terapéutica. La persistencia de las células madre cancerosas también puede contribuir al fracaso del tratamiento. Por lo tanto, las células madre cancerosas representan objetivos novedosos y traslacionalmente relevantes para la terapéutica del cáncer.

35 El NUC-1031, también conocido como gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]-fosfato o con el nombre comercial "Acelarin" es un derivado de ProTide del agente quimioterapéutico gemcitabina. El Acelarin ha sido descrito para su uso en el tratamiento de cánceres recurrentes/refractarios (Ghazaly *et al.*, "ProGem1: A phase I/II study of a first-in-class nucleotide analogue Acelarin (NUC-1031 in patients with advanced solid tumours"); y en el tratamiento de diferentes cánceres y células cancerosas (McGuigan, "A phosphoramidate ProTide (NUC-1031) and acquired and intrinsic resistance to gemcitabine" *J. Clin. Oncol.*, vol. 29, 2011; Ghazaly *et al.*, "Acelarin: A novel nucleotide analogue that overcomes the key cancer resistance mechanisms with poor survival"; y Slusarczyk, "Application of ProTide Technology to Gemcitabine: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development" *J. Med. Chem.*, vol. 57, 2014).

40

Resumen de la invención

45 En un primer aspecto, la presente invención proporciona NUC-1031 para su uso en el direccionamiento de células madre cancerosas en el tratamiento del cáncer.

En un segundo aspecto, la invención proporciona un procedimiento de determinación de si un paciente con cáncer o un estado precanceroso se beneficiará de la prevención o tratamiento del cáncer con NUC-1031, comprendiendo el procedimiento:

50 ensayar una muestra biológica representativa de cáncer o un estado precanceroso en el paciente para la presencia de CSC; en el que la presencia de CSC en la muestra biológica indica que el paciente se beneficiará del tratamiento con NUC-1031.

La invención se basa en el hallazgo de que NUC-1031 es capaz de reducir preferentemente los números de células madre cancerosas (CSC). Este hallazgo es sorprendente ya que se sabe que las CSC son resistentes a muchos

5 agentes quimioterapéuticos, y no se ha sugerido anteriormente que ya sea NUC-1031 o gemcitabina, el compuesto del profármaco original del que se deriva NUC-1031, pudieran dirigirse a CSC. De este modo, el hallazgo de que NUC-1031 es capaz de dirigirse a CSC y de este modo reducir su número, un hallazgo que los inventores han confirmado es aplicable a una amplia gama de cánceres, representa un sorprendente avance que permite una gama de nuevas aplicaciones terapéuticas de NUC-1031.

10 Los inventores han descubierto sorprendentemente que NUC-1031 es capaz de tratar eficazmente cánceres recurrentes o refractarios en pacientes humanos. Los estudios realizados por los inventores han demostrado que la administración de NUC-1031 a pacientes con muchas formas diferentes de cáncer recurrente o refractario es capaz de proporcionar un tratamiento eficaz del cáncer. En particular, tal administración es capaz de provocar una reducción en el tamaño del tumor y/o una reducción en biomarcadores clínicamente relevantes que se asocian con un pronóstico más favorable. Además, el tratamiento con NUC-1031 es capaz de mantener una reducción en el tamaño de los tumores en pacientes con cáncer recurrente o refractario. De acuerdo con lo anterior, NUC-1031 es capaz de lograr una tasa de control de enfermedades (DCR) alta y duradera en pacientes con cánceres recurrentes o refractarios.

15 De hecho, sin desear vincularse a ninguna hipótesis, los inventores creen que la capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC contribuye a la utilidad terapéutica de NUC-1031 en el tratamiento del cáncer recurrente o refractario.

20 La capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC proporciona nuevas terapias dirigidas contra las células cancerosas que se consideran más difíciles de tratar, y que se considera que juegan un papel importante en la resistencia que limita la efectividad de muchas terapias contra el cáncer existentes. Esta capacidad también proporciona una forma de dirigirse a las células que se cree que están asociadas con el desarrollo, progresión, recurrencia y diseminación de cánceres. De acuerdo con lo anterior, se reconocerá que esta actividad anti-CSC de NUC-1031 produce beneficios en contextos en los que se han buscado terapias nuevas y efectivas durante mucho tiempo.

Divulgaciones que no son parte de la presente invención

25 También se describe en este documento el uso de NUC-1031 en la fabricación de un medicamento para dirigir células madre cancerosas.

También se describe en este documento un procedimiento para dirigir células madre cancerosas, comprendiendo el procedimiento proporcionar una población de células madre cancerosas con una cantidad de NUC-1031 suficiente para dirigirse a tales células madre cancerosas.

30 El direccionamiento de las células madre cancerosas como se describe en este documento se puede emplear en la prevención o el tratamiento del cáncer. En procedimientos tales como los descritos en este documento, una población de células madre cancerosas puede estar en un cáncer o estado precanceroso en un paciente que necesita dicho direccionamiento, y el procedimiento puede comprender administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de NUC-1031 al paciente.

35 También se describe en este documento NUC-1031 para su uso como un medicamento para células madre contra el cáncer. Este uso de NUC-1031 también se puede emplear en la prevención o el tratamiento del cáncer.

También se describe en este documento un procedimiento de determinación de un régimen de tratamiento apropiado para un paciente con cáncer o un estado precanceroso, comprendiendo el procedimiento:

40 analizar una muestra biológica representativa de cáncer o un estado precanceroso en el paciente para la presencia de CSC; en el que la presencia de CSC en la muestra biológica indica que un régimen de tratamiento apropiado comprenderá el tratamiento del paciente con NUC-1031.

También se describe en este documento el NUC-1031 para su uso en la prevención o el tratamiento del cáncer en un paciente seleccionado para tal tratamiento mediante un procedimiento que comprende:

45 ensayar una muestra biológica representativa de cáncer o un estado precanceroso en el paciente para la presencia de CSC; en el que la presencia de CSC en la muestra biológica indica que el paciente es apropiado para el tratamiento con NUC-1031.

Los procedimientos descritos anteriormente pueden comprender además una etapa de prevención o tratamiento del cáncer o estado precanceroso usando NUC-1031.

De manera apropiada, el cáncer es cáncer recurrente o refractario. NUC-1031 se puede usar para el tratamiento de tal cáncer recurrente o refractario.

50 También se describe en este documento NUC-1031 para uso en el tratamiento de cáncer refractario en un paciente humano.

También se describe en este documento el uso de NUC-1031 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer recurrente o refractario en un paciente humano.

5 También se describe en este documento un procedimiento de tratamiento del cáncer recurrente o refractario en un paciente humano, comprendiendo el procedimiento proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de NUC-1031 a un paciente que necesita dicho tratamiento.

También se describe en este documento NUC-1031 para uso en el tratamiento del cáncer, en el que NUC-1031 se usa a una dosis de entre aproximadamente 500 mg/m<sup>2</sup> y 1000 mg/m<sup>2</sup> semanalmente en al menos un ciclo inicial de tratamiento, y luego para uso a una dosis semanal más baja en al menos un ciclo adicional de tratamiento. El cáncer puede ser un cáncer recurrente o refractario.

10 Descripción de los dibujos

La figura 1 muestra la estructura de gemcitabina.

La figura 2 muestra gráficos que comparan los efectos citotóxicos de NUC-1031 y gemcitabina en células de leucemia primaria, y que ilustran el valor LD<sub>50</sub> significativamente menor calculado con respecto a NUC-1031.

15 La figura 3 muestra gráficos de puntos que comparan los efectos citotóxicos de NUC-1031 y gemcitabina en células madre leucémicas, e ilustra que el tratamiento con NUC-1031 agota preferentemente las células CD34<sup>+</sup>/CD123<sup>+</sup> de las poblaciones de células tratadas.

La figura 4 es un gráfico que ilustra que NUC-1031 demuestra reducciones significativas en la viabilidad de células madre leucémicas CD34<sup>+</sup>/CD123<sup>+</sup> a concentraciones de 1 μM y 2.5 μM en comparación con gemcitabina.

20 La figura 5 presenta un gráfico y una tabla que compara los valores LD<sub>50</sub> generados usando isómeros Rp- y Sp- aislados de NUC-1031, una mezcla de isómeros NUC-1031 o gemcitabina en cultivos de células madre leucémicas KG1a.

La figura 6 muestra gráficos que demuestran la capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC leucémicas en comparación con la actividad citotóxica de gemcitabina.

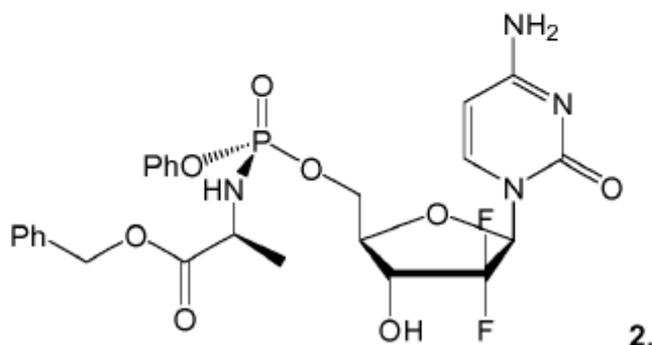
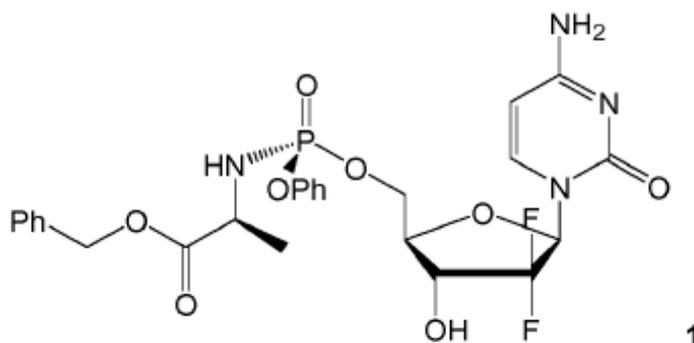
Descripción detallada de la invención

25 Las siguientes definiciones pueden ser útiles para la comprensión de la invención.

"NUC-1031"

30 El compuesto gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]-fosfato (también denominado NUC-1031, o con el nombre comercial Acelarin) es un derivado 'ProTide' del agente quimioterapéutico gemcitabina. Parece evitar muchos de los mecanismos de resistencia inherentes y adquiridos que limitan la utilidad de la gemcitabina (véase WO2005/012327; y '*Application of ProTide Technology to Gemcitabine: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development*'; Slusarczyk et al; J. Med. Chem.; 2014, 57, 1531-1542). Conceptualmente, es un profármaco de gemcitabina monofosfato, aunque esto no refleja necesariamente su mecanismo de acción contra las células madre cancerosas.

35 NUC-1031 existe en dos formas diastereoisoméricas, epiméricas en el centro de fosfato: gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]-(S)-fosfato 1 y gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]-(R)-fosfato 2:



De este modo, el NUC-1031 usado en la invención puede ser gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]-(S)-fosfato diastereoisoméricamente pura o sustancialmente diastereoisoméricamente pura, puede ser gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]-(R)-fosfato diastereoisoméricamente puro o sustancialmente diastereoisoméricamente puro o puede ser una mezcla de los dos isómeros.

"Sustancialmente diastereoméricamente puro" se define para los propósitos de esta invención como una pureza diastereomérica mayor que aproximadamente 90%. Puede significar una pureza diastereoisomérica mayor que aproximadamente 95%, mayor que aproximadamente 98%, mayor que aproximadamente 99%, o incluso mayor que aproximadamente 99.5%. Los diastereoisómeros se pueden separar por cromatografía (por ejemplo, HPLC, opcionalmente usando una columna quiral) o se pueden separar por cristalización. Puede ser más conveniente hacer una forma protegida de la mezcla diastereoisomérica NUC-1031, separar las formas protegidas de los diastereoisómeros NUC-1031 (por ejemplo, usando cromatografía o cristalización) y posteriormente eliminar los grupos protectores para proporcionar el NUC-1031 sustancialmente diastereoisoméricamente puro. Alternativamente, los diastereoisómeros se pueden sintetizar en forma sustancialmente diastereoisoméricamente pura usando procedimientos conocidos en la técnica. Esto puede implicar tanto etapas químicas como enzimáticas.

El NUC-1031 puede estar en forma de una base libre o puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales farmacéuticamente aceptables apropiadas incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, carbónico, bórico, sulfámico e bromhídrico, o sales de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácido acético, propiónico, butírico, tartárico, maleico, hidroximaleico, fumárico, málico, cítrico, láctico, mícico, glucónico, benzoico, succínico, oxálico, fenilacético, metanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, salicílico, sulfanílico, aspártico, glutámico, edético, esteárico, palmítico, oleico, ácidos láurico, pantoténico, tánico, ascórbico y valérico. Las sales de bases apropiadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y zinc. También se pueden formar hemisales de ácidos y bases, por ejemplo, sales hemisulfato y hemicalcio.

El NUC-1031 puede existir en una única forma cristalina o en una mezcla de formas cristalinas o pueden ser amorfas. De este modo, los compuestos de la invención destinados para uso farmacéutico se pueden administrar como productos cristalinos o amorfos. Se pueden obtener, por ejemplo, como tapones sólidos, polvos o películas mediante procedimientos tales como precipitación, cristalización, secado por congelación o secado por pulverización o secado por evaporación. Se puede usar secado por microondas o por radiofrecuencia para este propósito.

Formulaciones "NUC-1031"

5 NUC-1031, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede usar solo pero generalmente se administrará en forma de una composición farmacéutica en la que NUC-1031, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está asociada con un adyuvante farmacéuticamente aceptable, diluyente o portador. Los procedimientos convencionales para el direccionamiento y preparación de formulaciones farmacéuticas apropiadas se describen en, por ejemplo, "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

10 Dependiendo del modo de administración de NUC-1031, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, la composición farmacéutica que se usa para administrar NUC-1031, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, comprenderá preferiblemente desde 0.05 a 99% en peso ( por ciento en peso) de NUC-1031, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, más preferiblemente desde 0.05 a 80% en peso de NUC-1031, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, aún más preferiblemente desde 0.10 a 70% en peso de NUC-1031, o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo, e incluso más preferiblemente de 0.10 a 50% en peso de NUC-1031, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, siendo todos los porcentajes en peso basados en la composición total.

15 NUC-1031, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede administrar por vía oral. Para la administración oral, NUC-1031 se puede mezclar con un adyuvante o un portador, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol; un almidón, por ejemplo, almidón de patata, almidón de maíz o amilopectina; un derivado de celulosa; un aglutinante, por ejemplo, gelatina o polivinilpirrolidona; y/o un lubricante, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de calcio, polietilenglicol, una cera, parafina y similares, y luego se comprime en forma de comprimidos. Si se requieren comprimidos recubiertos, los núcleos, preparados como se describió anteriormente, se pueden recubrir con una solución concentrada de azúcar que puede contener, por ejemplo, goma arábiga, gelatina, talco y dióxido de titanio. Alternativamente, el comprimido se puede recubrir con un polímero apropiado disuelto en un solvente orgánico fácilmente volátil.

25 Preferiblemente, sin embargo, NUC-1031 se administra por vía parenteral y, en particular, por vía intravenosa. Para administración parenteral (por ejemplo, intravenosa), se puede administrar NUC-1031, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como una solución acuosa u oleosa estéril. NUC-1031 es muy lipofílico. Las formulaciones acuosas para administración intravenosa, particularmente las de la base libre de NUC-1031, por lo general también contendrán, por lo tanto, un solvente orgánico polar farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, dimetilacetamida, y uno o más solubilizantes u otros aditivos.

30 "Células madre cancerosas"

35 Las células madre cancerosas, que a veces se denominan otras "células iniciadoras de tumor", son bien conocidas por los expertos en la técnica. Como se usa en este documento, el término "célula madre cancerosa" (normalmente abreviado como CSC en la presente divulgación) se debe interpretar de acuerdo con su significado ampliamente aceptado, que es una célula que posee la capacidad de autorenovarse a través de la división asimétrica, iniciar formación de tumores, y para dar lugar a una progenie de cáncer de células no madre más madura por diferenciación.

Las CSC juegan un papel importante en el desarrollo, progresión, recurrencia y diseminación de cánceres. De acuerdo con lo anterior, el hallazgo de que NUC-1031 es capaz de dirigirse a CSC, y reducir así su número, ofrece posibilidades terapéuticas en el tratamiento de estas actividades.

40 Como se expone con más detalle en otra parte de la memoria descriptiva, las CSC se encuentran en estados precancerosos, donde se cree que su presencia contribuye al desarrollo de tales estados en cánceres. Como se describe en este documento, los procedimientos de tratamiento y usos médicos, en los que se usa NUC-1031 para dirigirse a CSC, se pueden usar para reducir los números de CSC en estados precancerosos (tales como síndrome mieloplástico u otros estados considerados en otra parte de la memoria descriptiva), y de este modo, para prevenir la progresión de tales estados precancerosos en el cáncer.

45 Como se mencionó anteriormente, la división celular asimétrica de CSC da lugar a células no madres cancerosas diferenciadas. La acumulación de tales células no madres cancerosas juega un papel importante en la progresión de los cánceres. El direccionamiento de CSC por NUC-1031 puede reducir los números de CSC, lo que a su vez reduce el número de progenie de células no madres cancerosas. De este modo, los procedimientos de tratamiento y usos médicos de NUC-1031 de acuerdo con la presente invención son beneficiosos para tratar el cáncer al evitar la progresión del cáncer. Tales realizaciones se describen con más detalles en otra parte en la presente memoria descriptiva.

55 Los CSC también pueden actuar como un depósito de células cancerosas que pueden provocar la recurrencia del cáncer después de la remisión. Incluso en el caso de que la mayoría de las células cancerosas del paciente se hayan eliminado (por ejemplo, mediante cirugía, radioterapia o quimioterapia, ya sea solos o en combinación), para que no queden signos observables de cáncer, la presencia continua de CSC puede nuclearse la recurrencia del cáncer con el tiempo. El direccionamiento de las CSC por NUC-1031 proporciona un nuevo modo mediante el cual

los números de CSC se pueden reducir y las CSC mueren. De acuerdo con lo anterior, y como se analiza con más detalle en otra parte de la memoria descriptiva, en realizaciones apropiadas, la presente invención proporciona procedimientos y usos médicos en los que NUC-1031 evita o retrasa la recurrencia del cáncer.

5 Además, el movimiento de CSC desde el sitio de un cáncer a otra ubicación dentro del cuerpo puede contribuir a la diseminación del cáncer, por ejemplo, dando lugar a metástasis. Por consiguiente, la capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC proporciona, por lo tanto, nuevos procedimientos de tratamiento y usos médicos para prevenir o tratar la diseminación del cáncer.

10 Además de sus actividades biológicas, las CSC se pueden identificar por su expresión de ciertos marcadores característicos de la superficie celular. Las células madre cancerosas identificadas en las neoplasias hematológicas suelen ser CD34<sup>+</sup>, mientras que, en los tumores sólidos, CD44<sup>+</sup>, CD133<sup>+</sup> y CD90<sup>+</sup> se han identificado como marcadores de células madre cancerosas. La siguiente tabla resume ejemplos de fenotipos de superficie de CSC conocidos. Se espera que cada una de estas formas de CSC pueda ser dirigida usando NUC-1031 de acuerdo con la invención, y así los procedimientos o usos que emplean NUC-1031 se pueden usar en el tratamiento de cánceres asociados con CSC que expresan cualquiera de estos conjuntos de marcadores.

Tipo de tumor	Marcadores de superficie celular CSC
Tumores sólidos	
Mama	CD44 <sup>+</sup> /CD24 <sup>-</sup> / <sup>pa</sup> /Linaje <sup>-</sup> /ESA <sup>+</sup>
CNS	CD133 <sup>+</sup>
Colon	CD133 <sup>+</sup>
Colon	ESA alto/CD44 <sup>+</sup> /Linaje <sup>-</sup> /(CD166 <sup>+</sup> )
Ewing	CD133 <sup>+</sup>
Cabeza y cuello	CD44 <sup>+</sup> /Linaje <sup>-</sup>
Melanoma	ABC5 <sup>+</sup>
Hígado	CD90 <sup>+</sup> /CD45 <sup>-</sup> /(CD44 <sup>+</sup> )
Colangiocarcinoma	CD44 <sup>+</sup> /GLI1 <sup>+</sup> (Homólogo-1 de oncogén asociado a glioma)
Ovarios	CD44 <sup>+</sup> /CD117 <sup>+</sup>
Páncreas	CD44 <sup>+</sup> /CD24 <sup>+</sup> /ESA <sup>+</sup>
Páncreas	CD133 <sup>+</sup>
Cáncer pulmonar de células no pequeñas	CD44 <sup>+</sup> /Ber-EP4 <sup>+</sup>
Cáncer de vejiga	CD44 <sup>+</sup> /ALDH1A1 <sup>+</sup>
Tumores hematológicos	
Leucemia mieloide aguda	Lin <sup>-</sup> /CD34 <sup>+</sup> /CD38 <sup>-</sup> /CD123 <sup>+</sup>
Leucemia linfoblástica aguda B	CD34 <sup>+</sup> /CD10 <sup>-</sup> o CD34 <sup>+</sup> /CD19 <sup>-</sup>
Leucemia linfoblástica aguda B	CD34 <sup>+</sup> /CD38 <sup>-</sup> /CD19 <sup>+</sup>
Mieloma múltiple	CD34 <sup>-</sup> /CD138 <sup>-</sup>
Leucemia linfoblástica aguda T	CD34 <sup>+</sup> /CD4 <sup>-</sup> o CD34 <sup>+</sup> /CD7 <sup>-</sup>

5 Los datos presentados en los ejemplos demuestran que NUC-1031 es capaz de dirigirse a CSC de líneas de células madre leucémicas, específicamente CSC presentes en la línea celular de leucemia mieloide aguda KG1a. Esta línea celular manifiesta un compartimento minoritario similar a células madre con un inmunofenotipo distintivo (Lin-/CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>+</sup>/CD123<sup>+</sup>) que está dirigido por NUC-1031. De acuerdo con lo anterior, los procedimientos de tratamiento o usos médicos de NUC-1031 de acuerdo con la presente divulgación se pueden usar para tratar leucemia u otros cánceres asociados con CSC que expresan estos marcadores característicos.

10 La presente divulgación también proporciona procedimientos y usos médicos en los que los pacientes se seleccionan para el tratamiento de cáncer, usando NUC-1031 de acuerdo con la presente invención, sobre la base de la identificación de la presencia de CSC en una muestra biológica representativa del cáncer del paciente o el estado precanceroso. Los marcadores establecidos anteriormente proporcionan ejemplos apropiados que se pueden usar para identificar la presencia de CSC de acuerdo con tales realizaciones de la invención. Las técnicas apropiadas mediante las cuales se puede investigar la expresión de estos marcadores en una muestra biológica se consideran adicionalmente en otra parte en esta memoria descriptiva.

"Direccionamiento de células madre cancerosas"

15 La presente invención proporciona la primera indicación de que NUC-1031 se puede usar para dirigir CSC en el tratamiento del cáncer. La capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC se ilustra en el estudio 1 expuesto en los ejemplos descritos en esta memoria descriptiva.

20 Se puede observar a partir de los resultados del estudio 1 que cuando se proporciona NUC-1031 a poblaciones de células cancerosas que contienen CSC se dirige a las CSC presentes, lo que conduce a una reducción en el número total de células cancerosas y en la proporción de células cancerosas totales que presentan marcadores fenotípicos de CSC.

25 Sin pretender imponer ninguna hipótesis, los inventores creen que la reducción en los números de CSC surge como resultado de la destrucción selectiva de las CSC entre la población de células cancerígenas. Es decir, que NUC-1031 parece matar preferentemente a CSC en comparación con la muerte de células no madres cancerosas, provocando así la muerte de CSC, y una reducción de la proporción de CSC entre la población total de células cancerosas.

Aunque los inventores creen que NUC-1031 mata preferentemente CSC en comparación con células no madres cancerosas, otros mecanismos también pueden contribuir a la reducción en la proporción de CSC causada por el direccionamiento de NUC-1031 de estas células.

30 Simplemente a modo de ejemplo, el tratamiento con NUC-1031 puede provocar un aumento en la diferenciación de CSC, reduciendo así los números de CSC y también la proporción de células cancerosas totales representadas por CSC. Alternativamente, NUC-1031 puede hacer que las CSC pierdan su fenotipo de células madre, por ejemplo, perder su capacidad de autorrenovación, reduciendo así los números de CSC.

35 Las referencias al direccionamiento de CSC en la presente divulgación se deben interpretar de acuerdo con lo anterior. Para los fines de la presente divulgación, se puede considerar que el "direccionamiento" de CSC abarca cualquier mecanismo mediante el cual NUC-1031 reduce la proporción de CSC presentes en una población de células, ya sea in vitro o in vivo. En particular, se puede considerar que el direccionamiento de CSC abarca la muerte preferencial de CSC en comparación con otros tipos de células, particularmente en comparación con las células no madres cancerosas.

40 "Prevención o tratamiento del cáncer"

45 En este documento, se describen usos médicos y procedimientos de tratamiento en los que se usa NUC-1031 para la prevención o el tratamiento del cáncer. En el contexto de la presente divulgación, debe considerarse que la "prevención" del cáncer se relaciona con las aplicaciones profilácticas de NUC-1031 usadas antes del desarrollo del cáncer, y con el objetivo de evitar el desarrollo del cáncer. Por otro lado, se considera que el "tratamiento" del cáncer concierne al uso de NUC-1031 después de que haya ocurrido el cáncer, con miras a mejorar el cáncer al ralentizar o detener la proliferación de células cancerígenas y el crecimiento tumoral. Ventajosamente, el tratamiento del cáncer puede provocar una reducción parcial o total del número de células cancerígenas y del tamaño del tumor. El tratamiento eficaz del cáncer puede provocar una enfermedad que se "estabiliza" o "responde" de acuerdo con las reglas RECIST (criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos).

50 Como se describe en más detalle a continuación, la prevención del cáncer puede ser de particular beneficio en pacientes que tienen un estado precanceroso que aumenta su probabilidad de desarrollar cáncer.

"Prevención del cáncer"

La prevención del cáncer de acuerdo con la presente divulgación se puede efectuar mediante el tratamiento de un estado precanceroso usando NUC-1031 de acuerdo con los diversos aspectos o realizaciones de la invención descrita en este documento.

5 En particular, la prevención del cáncer, en el contexto de la presente divulgación, se puede lograr mediante los procedimientos o usos médicos descritos en los que se proporciona NUC-1031 a un paciente con un estado precanceroso. Los procedimientos de tratamiento o usos médicos de acuerdo con esta divulgación pueden evitar el desarrollo del estado precanceroso tratado en cáncer, proporcionando así una prevención eficaz del cáncer.

10 Las referencias a la prevención del cáncer en el contexto de la presente divulgación también pueden abarcar otras aplicaciones profilácticas de NUC-1031. Por ejemplo, la capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC y así prevenir el desarrollo de cáncer, y/o prevenir la progresión del cáncer, y/o prevenir la recurrencia del cáncer, y/o prevenir la diseminación del cáncer.

"Estados precancerosos"

15 El cáncer está frecuentemente precedido por el desarrollo de un estado precanceroso, que no es en sí mismo canceroso, pero está asociado con un mayor riesgo de cáncer. La acumulación de cambios genéticos o epigenéticos puede causar que células previamente normales desarrollen un fenotipo de CSC. De acuerdo con lo anterior, las CSC también pueden estar presentes en tales estados precancerosos, así como en estados cancerosos.

20 Se cree que la presencia de CSC en estados precancerosos contribuye al desarrollo de estos estados en el cáncer. Los procedimientos y usos médicos de la invención se pueden emplear para dirigir CSC presentes en estados precancerosos, y tratar así tales condiciones. Se apreciará que el hallazgo nuevo e inesperado de que NUC-1031 se dirige a CSC significa que el tratamiento con NUC-1031 de estados precancerosos se puede usar para evitar que dichos estados se conviertan en cáncer. Esto representa una forma en la que NUC-1031 se puede usar médicamente en la prevención del cáncer, como se considera en otra parte de esta memoria descriptiva.

25 Los ejemplos de estados precancerosos incluyen, pero no se limitan a, los seleccionados del grupo que consiste en queratosis actínica, esófago de Barrett, disqueratosis congénita, disfagia sideropenica, liquen plano, fibrosis submucosa oral, elastosis solar, displasia cervical, leucoplasia, eritroplaquia, gammapatía monoclonal de significado desconocido (MGUS), linfocitosis monoclonal de células B (MBL), síndromes mielodisplásicos, así como estados precancerosos del estómago como gastritis atrófica, úlcera gástrica, anemia perniciosa, tocones gástricos, pólipos gástricos y enfermedad de Ménétrier. Entre los estados precancerosos enumerados del estómago, la gastritis atrófica, la anemia perniciosa, los tocones gástricos y ciertos tipos de pólipos gástricos pueden tener un riesgo  
30 particularmente elevado de desarrollar cánceres.

Los estados precancerosos a menudo toman la forma de lesiones que comprenden células displásicas o hiperplásicas. De acuerdo con lo anterior, la presencia de displasia o hiperplasia, como una alternativa o adición a la presencia de células con marcadores expresados o fenotipos característicos de CSC, se puede usar en la identificación de estados precancerosos.

35 La gravedad de la displasia puede variar entre diferentes estados precancerosos, o con el desarrollo de un estado precanceroso único a través del tiempo. En general, cuanto más avanzada es la displasia asociada con un estado precanceroso, es más probable que el estado precanceroso se convierta en cáncer. La displasia por lo general se clasifica como leve, moderada o grave. La displasia grave generalmente se convierte en cáncer si no se trata. Adecuadamente, los procedimientos de tratamiento de usos médicos de la invención que emplean NUC-1031  
40 pueden por lo tanto usarse para tratar a un paciente con un estado precanceroso asociado con displasia grave. De acuerdo con la presente divulgación, NUC-1031 se usa para tratar a un paciente con displasia cervical grave. La displasia cervical grave se puede diagnosticar mediante una prueba de frotis. En una divulgación adicional, NUC-1031 se usa para tratar la displasia esofágica grave ("esófago de Barrett"). La displasia esofágica grave se puede diagnosticar después de una biopsia de tejido.

45 Se ha informado recientemente que las preneoplasias malignas también se pueden identificar mediante la detección de mutaciones somáticas en células en individuos que no se sabe que tienen cáncer. En particular, se ha informado que la hematopoyesis clonal relacionada con la edad es una afección premaligna común que se asocia con un aumento de la mortalidad general y un mayor riesgo de enfermedad cardiometabólica. La mayoría de las mutaciones detectadas en las células sanguíneas se produjeron en tres genes: DNMT3A, TET2 y ASXL1. De acuerdo con lo  
50 anterior, los pacientes que se beneficiarán del uso de NUC-1031 para dirigirse a CSC, y tratar así un estado precanceroso, se pueden identificar ensayando una muestra que comprende células sanguíneas para la presencia de mutaciones genéticas indicativas de un estado precanceroso en al menos uno de: DNMT3A y/o TET2 y/o ASXL1.

55 Los estados precancerosos que se pueden beneficiar del tratamiento con NUC-1031 de acuerdo con la divulgación para dirigirse a CSC también se pueden identificar mediante la determinación de la presencia de CSC con referencia a cualquiera de las técnicas basadas en la expresión de marcadores característicos de CSC, o fenotipos de CSC, discutidos en otra parte en la memoria descriptiva.

"Tratamiento del cáncer"

El experto apreciará que hay muchas mediciones por las cuales se puede evaluar el "tratamiento" del cáncer. Simplemente a modo de ejemplo, cualquier reducción o prevención del desarrollo del cáncer, progresión del cáncer, recurrencia del cáncer o diseminación del cáncer se puede considerar como un tratamiento eficaz del cáncer.

- 5 En ciertas realizaciones, se puede usar NUC-1031: para reducir la proporción de CSC en una población de células cancerosas; y/o para inhibir el crecimiento tumoral; y/o para reducir la tumorigenicidad; y/o para tratar un cáncer primario; y/o para tratar un cáncer recurrente; y/o para tratar un cáncer metastásico o secundario; y/o para tratar, prevenir o inhibir la metástasis o la recurrencia; y/o para tratar o prevenir el cáncer refractario.

- 10 La capacidad del tratamiento del cáncer usando NUC-1031 para provocar una reducción en el tamaño tumoral, y también para mantener la reducción en el tamaño del tumor durante/después del período en el que se administra el tratamiento representa una indicación particularmente relevante de tratamiento eficaz contra el cáncer. Como se expone en los ejemplos, los tratamientos o usos médicos de la invención han demostrado ser sorprendentemente eficaces a este respecto, incluso en el tratamiento de cánceres recurrentes o refractarios que previamente han sido resistentes al tratamiento con otras terapias.

- 15 Los datos presentados en los ejemplos ilustran que el tratamiento con NUC-1031 reduce la proporción de CSC en una población de células cancerosas. Las actividades biológicas características o los marcadores de superficie celular mediante los cuales se pueden identificar las CSC se describen en otra parte de la memoria descriptiva. En una realización apropiada, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la presente invención puede dar lugar a una  
 20 reducción en la proporción de CSC presentes en el cáncer de un paciente de al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, o al menos 40%. En realizaciones apropiadas, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en la proporción de CSC presentes en el cáncer de un paciente de al menos 50%, al menos 60%, al menos 70% o al menos 80%. El tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en la proporción de CSC presentes en el cáncer de un paciente de al menos 85%, al menos 90% o al menos 95%. De hecho, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una  
 25 reducción en la proporción de CSC presentes en el cáncer de un paciente de al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o incluso 100 % (tal que sustancialmente no quedan CSCs).

- La división asimétrica de CSC contribuye al crecimiento de tumores. El tratamiento del cáncer con NUC-1031 de acuerdo con la presente invención puede provocar una inhibición del crecimiento tumoral de al menos 10%, al menos 20%, al menos 30% o al menos 40%. El tratamiento apropiado del cáncer de acuerdo con la invención puede  
 30 dar lugar a una inhibición del crecimiento tumoral de al menos 50%, al menos 60%, al menos 70% o al menos 80%. El tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una inhibición del crecimiento tumoral de al menos 85%, al menos 90%, o al menos 95% en un paciente así tratado. De hecho, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una inhibición del crecimiento tumoral de al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o incluso 100% en un cáncer tratado.

- 35 El crecimiento tumoral se puede evaluar mediante cualquier procedimiento apropiado en el que se evalúe el cambio en el tamaño de un tumor a través del tiempo. Adecuadamente, el tamaño de un tumor antes del tratamiento del cáncer se puede comparar con el tamaño del mismo tumor durante o después del tratamiento del cáncer. Se conocen un número de formas en las que se puede evaluar el tamaño de un tumor. Por ejemplo, el tamaño de un tumor se puede evaluar mediante imágenes del tumor in situ dentro de un paciente. Las técnicas apropiadas, tales  
 40 como las técnicas de imagen, pueden permitir determinar el volumen de un tumor y evaluar los cambios en el volumen tumoral.

- Como se muestra en los resultados expuestos en los ejemplos de esta memoria descriptiva, los procedimientos de tratamiento y usos médicos de NUC-1031 de la invención son capaces no solo de detener el crecimiento tumoral, sino que en realidad son capaces de provocar una reducción en volumen del tumor en pacientes con cánceres,  
 45 incluidos pacientes con cánceres recurrentes o refractarios. El tratamiento apropiado del cáncer de acuerdo con la presente invención puede dar lugar a una reducción en el volumen tumoral de al menos 10%, al menos 20%, al menos 30% o al menos 40%. En realizaciones apropiadas, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en el volumen tumoral de al menos 50%, al menos 60%, al menos 70% o al menos 80%. El tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en el volumen tumoral de al menos 85%, al menos 90% o al menos 95%. De hecho, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención  
 50 puede dar lugar a una reducción en el volumen tumoral de al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o incluso 100%.

- Se puede calcular una reducción en el volumen tumoral del tipo descrito anteriormente con referencia a un control apropiado. Por ejemplo, en estudios realizados in vitro o in vivo en modelos animales apropiados, la reducción en el  
 55 volumen tumoral se puede determinar por comparación directa entre el volumen de un tumor tratado con NUC-1031 y el volumen de un tumor de control (que puede ser sin tratamiento, o puede haber recibido tratamiento que no sea con NUC-1031). Se apreciará que tales modelos que requieren la falta de tratamiento de un tumor pueden no ser éticamente aceptables en el contexto de ensayos clínicos o tratamiento terapéutico de pacientes, y en este caso una

reducción en el volumen tumoral se puede evaluar comparando el volumen de un tumor tratado con el volumen del mismo tumor antes del tratamiento, o con un volumen pronosticado que hubiera alcanzado el tumor si no se hubiera administrado ningún tratamiento.

5 Los resultados expuestos en los ejemplos demuestran que los procedimientos de tratamiento y usos médicos de NUC-1031 de la invención son capaces de provocar una reducción en biomarcadores indicativos de cáncer. La reducción de dichos biomarcadores proporciona una evaluación adicional mediante la cual se puede demostrar un tratamiento eficaz del cáncer. Los ejemplos apropiados de dichos biomarcadores se pueden seleccionar en función del tipo de cáncer que se va a tratar: en el caso de cánceres ginecológicos, CA125 representa un ejemplo apropiado de un biomarcador, mientras que, en el caso de cánceres pancreáticos o biliares, CA19.9 representa un apropiado ejemplo de un biomarcador, y en el caso de cánceres colorrectales, CEA puede ser un biomarcador apropiado.

10 El tratamiento apropiado del cáncer de acuerdo con la presente invención puede dar lugar a una reducción en biomarcadores de cáncer de al menos 10%, al menos 20%, al menos 30% o al menos 40%. En realizaciones apropiadas, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en biomarcadores de cáncer de al menos 50%, al menos 60%, al menos 70% o al menos 80%. El tratamiento del  
 15 cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en biomarcadores de cáncer de al menos 85%, al menos 90% o al menos 95%. De hecho, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en biomarcadores de cáncer de al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o incluso 100%.

20 Los efectos beneficiosos, tales como una reducción en la proporción de CSC presentes, reducción en el crecimiento tumoral o reducción en el volumen tumoral o biomarcadores del cáncer, observados en el tratamiento del cáncer de acuerdo con la presente invención se pueden mantener durante al menos un mes. Adecuadamente, tales efectos beneficiosos se pueden mantener durante al menos dos meses, al menos tres meses, al menos cuatro meses, al menos cinco meses o al menos seis meses. De hecho, dichos efectos beneficiosos se pueden mantener durante al menos 12 meses, al menos 18 meses o al menos 24 meses. Adecuadamente, los efectos beneficiosos se pueden  
 25 mantener durante al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años o diez años o más.

30 Como se describe en este documento, NUC-1031 se puede usar en un procedimiento para prevenir o tratar el cáncer o una condición premaligna, mediante el direccionamiento a las células madre cancerosas. También se describe en este documento el uso de NUC-1031 en un procedimiento para prevenir o tratar el cáncer o una afección premaligna, en el que el procedimiento reduce la tumorigenicidad de una o más células madre cancerosas. Adecuadamente, tales procedimientos pueden prevenir la progresión del cáncer, o inhibir el crecimiento tumoral.

35 Cuando se usa NUC-1031 en procedimientos o usos médicos de la presente divulgación para prevenir o tratar la progresión de un cáncer, dicha prevención o tratamiento puede hacer que la progresión del cáncer se desacelere, se retrase o se detenga por completo.

40 El progreso de un cáncer se determina por lo general asignando un estadio al cáncer. La estadificación generalmente se lleva a cabo asignando un número desde I a IV al cáncer, siendo I un cáncer aislado y IV un cáncer que se ha diseminado hasta el límite de lo que mide la evaluación. Las características de la estadificación varían entre cánceres, pero el estadio generalmente tiene en cuenta el tamaño de un tumor, si ha invadido órganos adyacentes, cuántos ganglios linfáticos regionales (cerca) se ha diseminado (si los hay) y si ha aparecido en lugares más distantes (metástasis).

45 En general, el estadio I se localiza en una parte del cuerpo y se puede tratar mediante resección quirúrgica (para tumores sólidos que son lo suficientemente pequeños). El estadio II está localmente avanzado y es tratable mediante quimioterapia, radioterapia, cirugía o una combinación de los mismos. El estadio III también está localmente avanzada y la designación del estadio II o estadio III depende del tipo específico de cáncer, aunque el estadio III generalmente se acepta como "tardía" localmente avanzada. Los cánceres de estadio IV a menudo se han metastatizado en un segundo órgano. El tratamiento del cáncer usando NUC-1031 en los procedimientos o usos médicos de la presente invención se puede usar para tratar un cáncer en estadio I, II, III o IV mediante el direccionamiento a CSC. El tratamiento con NUC-1031 se puede usar para prevenir la progresión de un cáncer de un estadio al otro. En una realización, el tratamiento con NUC-1031 se usa para prevenir la progresión del estadio I al estadio II. En otra realización, el tratamiento con NUC-1031 se usa para prevenir la progresión del estadio II al estadio III. En aún otra realización, el tratamiento con NUC-1031 se usa para prevenir la progresión del estadio III al estadio IV.

55 Prevenir o inhibir la progresión del cáncer es particularmente importante para prevenir la diseminación del cáncer, por ejemplo, la progresión del estadio I al estadio II donde el cáncer se disemina localmente, o la progresión del estadio III al estadio IV donde el cáncer metastatiza a otros órganos. Los CSC son tumorigenos y se cree que juegan un papel fundamental en la diseminación del cáncer, tanto a nivel local como metastático. Los procedimientos de tratamiento o usos médicos de la invención que emplean NUC-1031 pueden, por lo tanto, usarse

para prevenir la diseminación del cáncer, mediante el direccionamiento a CSC tumorigénicas y reduciendo así su número.

"Cánceres"

5 Las CSC juegan un papel en la actividad biológica de una amplia gama de cánceres. De acuerdo con lo anterior, existe una amplia gama de cánceres que se pueden tratar de acuerdo con la presente invención.

10 Como se discute en otra parte en este documento, se sabe que las CSC están presentes en muchos tipos de tumores, incluidos los tumores líquidos (incluidos los tumores hematológicos, tal como leucemias y linfomas) y los tumores sólidos (tal como mama, pulmón, colon, próstata, ovario, piel, vejiga, tumores biliares y páncreas). Por lo tanto, se espera que los procedimientos de tratamiento y usos médicos de NUC-1031 para dirigirse a CSC sean útiles en el tratamiento de tales cánceres.

15 Adecuadamente, NUC-1031 se puede usar en el tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en: leucemia, linfoma, mieloma múltiple, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, neuroblastoma, carcinoma de tiroides, cáncer de piel (incluido melanoma), carcinoma de células escamosas oral, cáncer de vejiga urinaria, tumor de células de Leydig, cáncer biliar, como colangiocarcinoma o cáncer de vías biliares, cáncer de páncreas, cáncer de colon, cáncer colorrectal y cánceres ginecológicos, incluido cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de trompas de Falopio, cáncer de útero y cáncer de cuello uterino, incluido carcinoma de cuello uterino epitelio. En realizaciones apropiadas, el cáncer es leucemia y se puede seleccionar del grupo que consiste en leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (también conocida como leucemia mieloide aguda o leucemia no linfocítica aguda), leucemia promielocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica (también conocida como leucemia mieloide crónica, leucemia mielocítica crónica o leucemia granulocítica crónica), leucemia linfocítica crónica, leucemia monoblástica y leucemia de células pilosas. En realizaciones preferidas adicionales, el cáncer es leucemia linfoblástica aguda. En una realización apropiada, el cáncer es linfoma, que se puede seleccionar del grupo que consiste en: linfoma de Hodgkin; linfoma de no Hodgkin; linfoma de Burkitt; y linfoma linfocítico pequeño.

20 El direccionamiento apropiado de CSC en tales cánceres puede lograr un tratamiento eficaz del cáncer al prevenir o tratar el desarrollo del cáncer, al prevenir o tratar la progresión del cáncer, al prevenir o tratar la recurrencia del cáncer, o al prevenir o tratar la diseminación del cáncer.

En una realización apropiada, la presente invención proporciona NUC-1031 para su uso en el direccionamiento de CSC en el tratamiento del cáncer metastásico.

30 En una realización apropiada, la presente invención proporciona NUC-1031 para uso en el direccionamiento de CSC en el tratamiento de cáncer recurrente o refractario.

En una realización apropiada, la presente invención proporciona NUC-1031 para uso en el direccionamiento de CSC en el tratamiento de un cáncer primario. Adecuadamente, el cáncer primario tratado puede ser un segundo cáncer primario.

35 La invención proporciona NUC-1031 para su uso en el direccionamiento de CSC en el tratamiento del cáncer secundario. En una realización apropiada, el cáncer secundario es un cáncer metastásico.

En una realización apropiada, la presente invención proporciona NUC-1031 para su uso en el direccionamiento de CSC, en el que el direccionamiento de CSC evita o inhibe: (i) la recurrencia de un cáncer; (ii) aparición de un segundo cáncer primario; o (iii) metástasis de un cáncer.

40 Los procedimientos de tratamiento o usos médicos en los que se emplea NUC-1031 sobre la base de su capacidad para dirigirse a CSC se pueden usar en el tratamiento de cáncer recurrente o refractario. Las consideraciones con respecto al cáncer recurrente o refractario en tales realizaciones son, excepto cuando el contexto requiere lo contrario, el mismo que para el tratamiento del cáncer recurrente o refractario en relación con el octavo a décimo aspectos de la invención.

45 "Cáncer recurrente o refractario"

Como se indicó anteriormente, ciertos aspectos y realizaciones de la invención se refieren particularmente al uso de NUC-1031 en el tratamiento de cánceres recurrentes o refractarios.

50 Para los fines de la presente invención, los cánceres refractarios se pueden tomar como cánceres que demuestran resistencia al tratamiento mediante terapias anticancerígenas distintas de las que utilizan NUC-1031. Por ejemplo, NUC-1031 se puede usar en el tratamiento de cánceres refractarios que son resistentes al tratamiento con radioterapia. Alternativamente, o adicionalmente, NUC-1031 se puede usar en el tratamiento de cánceres refractarios que son resistentes a agentes biológicos usados en el tratamiento del cáncer. En una realización

apropiada, NUC-1031 se puede usar en el tratamiento de cánceres refractarios que son resistentes al tratamiento con agentes quimioterapéuticos distintos de NUC-1031.

En particular, los cánceres refractarios que se pueden beneficiar de los procedimientos de tratamiento de usos médicos de la invención que emplean NUC-1031 incluyen aquellos cánceres que son resistentes a la gemcitabina.

- 5 Los cánceres recidivados (o cánceres recurrentes) son aquellos que reaparecen después de un período de remisión durante el cual no se puede detectar el cáncer. La recurrencia del cáncer puede ocurrir en el sitio del cáncer original (recurrencia local del cáncer), en un sitio cercano al cáncer original (recurrencia regional del cáncer) o en un sitio distante del cáncer original (recurrencia del cáncer distal). Se cree que las CSC juegan un papel en la recurrencia del cáncer, proporcionando una fuente a partir de la cual se generan las células del cáncer recurrente. De acuerdo con lo anterior, los procedimientos de tratamiento y usos médicos de NUC-1031 de acuerdo con la invención, que permiten el direccionamiento de CSC, pueden ser de gran beneficio en el contexto de cánceres recurrentes. La capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC se puede utilizar para eliminar las poblaciones de tales células que pueden dar lugar a la recurrencia, evitando de este modo la incidencia de cáncer recurrente. La actividad anti-CSC de NUC-1031 también se puede usar para dirigirse a CSC en cánceres que han reaparecido, así como potencialmente ejercer efectos citotóxicos en células no madres cancerosas, proporcionando así el tratamiento de cánceres recurrentes.

En vista de lo anterior, se apreciará que NUC-1031 se puede usar en los procedimientos o usos de la invención para el tratamiento de un cáncer recurrente. NUC-1031 se puede usar en los procedimientos o usos de la invención para el tratamiento de un cáncer recurrente local, regional o distante.

- 20 Se puede usar NUC-1031 en los procedimientos o usos de la invención para prevenir la recurrencia del cáncer proporcionando al menos 2 meses, al menos 6 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, o al menos 30 meses de remisión. De hecho, NUC-1031 se puede usar para prevenir la recurrencia del cáncer al proporcionar al menos 4 años, al menos 5 años, al menos 6 años, al menos 7 años, al menos 8 años, al menos 9 años o al menos 10 años de remisión.
- 25 NUC-1031 se puede usar en los procedimientos o usos de la invención para tratar un cáncer recurrente que ha reaparecido después de al menos 2 meses, al menos 6 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, o al menos 30 meses de remisión. De hecho, NUC-1031 se puede usar para tratar un cáncer recurrente que ha reaparecido después de al menos 4 años, al menos 5 años, al menos 6 años, al menos 7 años, al menos 8 años, al menos 9 años, o al menos 10 años de remisión.
- 30 La capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC da lugar a la capacidad de este compuesto para tratar cánceres de acuerdo con los usos médicos o procedimientos de tratamiento de los aspectos primero a sexto de la invención. Sin embargo, se debe tener en cuenta que NUC-1031 también ejerce un efecto citotóxico directo sobre las células no madres cancerosas que constituyen la mayor parte de los tumores. Si bien la actividad de las CSC puede ser la base de gran parte de la resistencia que hace que los cánceres recurrentes o refractarios sean tan difíciles de tratar, las células no madres cancerosas también son un componente principal de dichos cánceres recurrentes o refractarios.

- 35 NUC-1031 ejerce mayores efectos citotóxicos sobre células no madres cancerosas que la gemcitabina, la molécula quimioterapéutica de la que se deriva NUC-1031. De acuerdo con lo anterior, el mecanismo mediante el cual NUC-1031 actúa en el tratamiento del cáncer recurrente o refractario, por ejemplo, en el octavo, noveno o décimo aspectos de la invención, puede no limitarse únicamente a la actividad anti-CSC de este compuesto, sino que puede también hacer uso de la acción de NUC-1031 en células no madres cancerosas. En tales usos, el tratamiento con NUC-1031 reducirá el número total de tanto CSC como células no madres cancerosas, pero reducirá de forma preferencial la proporción de CSC que permanecen después del tratamiento.

Dosis terapéuticamente efectivas de NUC-1031

- 45 Una cantidad terapéuticamente eficaz de NUC-1031 puede ser una cantidad suficiente para inducir la muerte de CSC. En algunas realizaciones, particularmente las relacionadas con el tratamiento de cáncer recurrente o refractario, una cantidad terapéuticamente eficaz de NUC-1031 puede ser una cantidad suficiente para inducir la muerte de CSC y también para inducir la muerte de células no madres cancerosas.

- 50 Hay varias formas diferentes en que se puede calcular y expresar la cantidad de un compuesto terapéuticamente eficaz, tal como NUC-1031, que se administrará a un paciente. Una de las formas que se considera particularmente relevante en dosis de agentes para el tratamiento del cáncer es en la cantidad del agente que se va a administrar por unidad de área de superficie corporal del paciente. Tales dosis se expresan por lo general en términos de la cantidad del agente (que puede determinarse por la masa) por metro cuadrado (m<sup>2</sup>) de área superficial.

- 55 Los usos de NUC-1031 para el tratamiento del cáncer pueden utilizar una dosis semanal de entre 250 mg/m<sup>2</sup> y 1000 mg/m<sup>2</sup>. Tales tratamientos pueden, por ejemplo, utilizar una dosis semanal de entre 375 mg/m<sup>2</sup> y 900 mg/m<sup>2</sup>. Como

se describe adicionalmente en los ejemplos, los inventores han descubierto que NUC-1031 logra un tratamiento eficaz de cánceres recurrentes o refractarios cuando a los pacientes se les administran dosis semanales que oscilan entre aproximadamente 500 mg/m<sup>2</sup> y 825 mg/m<sup>2</sup>.

5 Sin pretender imponer ninguna hipótesis, los inventores creen que la capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC permite lograr la eficacia terapéutica usando dosis menores de este compuesto de lo que se esperaría de otro modo. Simplemente a modo de ejemplo, las dosis semanales de NUC-1031 que son tan bajas como 825 mg/m<sup>2</sup>, 750 mg/m<sup>2</sup>, 600 mg/m<sup>2</sup>, o 500 mg/m<sup>2</sup> pueden resultar terapéuticamente eficaces en los usos y procedimientos de la invención.

10 Se puede proporcionar una dosis semanal elegida de NUC-1031 en una sola incidencia de administración, o en múltiples incidencias de administración durante una semana. Por ejemplo, se puede proporcionar una dosis semanal de NUC-1031 en dos incidencias de administración, en tres incidencias de administración o más. De este modo, en el caso de una dosis semanal de 750 mg/m<sup>2</sup>, esto se puede lograr mediante tres administraciones de 250 mg/m<sup>2</sup> en el transcurso de una semana, o dos administraciones de 375 mg/m<sup>2</sup> durante una semana. De forma similar, en el caso de una dosis semanal de 600 mg/m<sup>2</sup>, esto se puede lograr mediante tres administraciones de 200 mg/m<sup>2</sup> en el transcurso de una semana, o dos administraciones de 300 mg/m<sup>2</sup> durante una semana.

15 Una cantidad apropiada de NUC-1031 que se va a administrar en una única incidencia de tratamiento para proporcionar una dosis requerida de este compuesto durante el transcurso de la semana puede estar entre aproximadamente 100 mg/m<sup>2</sup> y 300 mg/m<sup>2</sup>.

20 La dosis semanal de NUC-1031 proporcionada puede disminuir durante el transcurso del tratamiento. Por ejemplo, los inventores han descubierto que el tratamiento se puede iniciar a una dosis semanal de alrededor de 1000 mg/m<sup>2</sup>, 900 mg/m<sup>2</sup>, 825 mg/m<sup>2</sup>, 750 mg/m<sup>2</sup>, o 725 mg/m<sup>2</sup>. En el transcurso del tratamiento, la dosis necesaria puede disminuir a alrededor de 750 mg/m<sup>2</sup> (en los casos en que la dosis inicial sea superior a esta cantidad), alrededor de 650 mg/m<sup>2</sup>, alrededor de 625 mg/m<sup>2</sup> o incluso alrededor de 500 mg/m<sup>2</sup> o alrededor de 375 mg/m<sup>2</sup>.

25 Las dosis de agentes terapéuticos tales como NUC-1031 pueden, por supuesto, presentarse de otras maneras. El más común de estos es la cantidad de agente activo que se proporcionará por unidad de masa corporal. Se ha calculado que, para un paciente humano promedio, una dosis de 1 mg/m<sup>2</sup> es equivalente a aproximadamente 0.025 mg/kg de masa corporal. De acuerdo con lo anterior, los datos indican que NUC-1031 es eficaz para el tratamiento de cáncer recurrente o refractario a dosis que varían de aproximadamente 6.25 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg. Una dosis apropiada puede ser, por ejemplo, de entre aproximadamente 9.5 mg/kg y 22.5 mg/kg. En una realización apropiada, NUC-1031 consigue un tratamiento eficaz de cánceres recurrentes o refractarios cuando a los pacientes se les administran dosis semanales que oscilan entre aproximadamente 12.5 mg/kg y 20.5 mg/kg.

30 Las consideraciones con respecto a las formulaciones de NUC-1031 apropiadas para su uso en los procedimientos de tratamiento y usos médicos de la presente invención se describen en otra parte en esta divulgación. En el caso de las formulaciones inyectables de NUC-1031, éstas se pueden administrar por vía intravenosa. La administración intravenosa se puede lograr en cualquier marco de tiempo apropiado, por ejemplo, en una inyección de diez minutos o similar.

#### Regímenes de dosificación

40 El undécimo aspecto de la invención proporciona NUC-1031 para uso en el tratamiento del cáncer, en el que NUC-1031 se usa con una dosis relativamente alta (de entre aproximadamente 625 mg/m<sup>2</sup> y 1000 mg/m<sup>2</sup> semanalmente) para al menos un ciclo al inicio del tratamiento, antes de cambiar a una dosis semanal menor en al menos un ciclo de tratamiento adicional. Tales regímenes de dosificación se pueden usar en el tratamiento de cáncer mediante el direccionamiento a CSC, o en el tratamiento de cáncer recurrente o refractario.

En un ejemplo apropiado, NUC-1031 se puede administrar como una inyección intravenosa en bolo durante un período de 5 minutos, 10 minutos o 30 minutos.

45 Se puede administrar adecuadamente NUC-1031 los días 1, 8, 15 de un ciclo de 4 semanas durante hasta 6 ciclos. Alternativamente, NUC-1031 se puede administrar los días 1, 5, 8, 12, 15, 19, de un ciclo de 4 semanas para hasta 6 ciclos.

Los regímenes de dosificación y los ciclos que proporcionan la provisión dos veces semanalmente de NUC-1031 son particularmente potentes en el tratamiento de cáncer, tal como cáncer recurrente o refractario.

#### 50 Tipos de tratamiento

En una realización apropiada, la presente invención NUC-1031 para su uso según la reivindicación 1 en el direccionamiento de CSC como un tratamiento de primera línea del cáncer.

Sin embargo, el hallazgo de que NUC-1031 se puede dirigir a CSC y tratar así el cáncer recurrente o refractario ilustra que NUC-1031 puede proporcionar un tratamiento eficaz del cáncer en contextos en los que otros tratamientos han demostrado ser ineficaces. De acuerdo con lo anterior, en una realización apropiada, la presente invención proporciona NUC-1031 para direccionamiento a CSC como un tratamiento de segunda línea del cáncer.

5 De hecho, en una realización apropiada, la presente invención proporciona NUC-1031 para direccionamiento a CSC como una tercera línea, o más del tratamiento del cáncer.

10 En una realización apropiada, la presente invención proporciona NUC-1031 para su uso como neoadyuvante en el tratamiento del cáncer. Un neoadyuvante es un agente proporcionado a un paciente para reducir el tamaño de un tumor antes de una terapia contra el cáncer "principal", tal como la extirpación quirúrgica del cáncer. NUC-1031 se puede usar como una terapia neoadyuvante para un paciente que posteriormente se someterá a un tratamiento quirúrgico de cáncer y/o radioterapia para el cáncer.

15 Alternativamente, o adicionalmente, la invención proporciona NUC-1031 para uso como un adyuvante en el tratamiento del cáncer. Un adyuvante es un agente proporcionado a un paciente después de una terapia contra el cáncer "principal", como la extirpación quirúrgica del cáncer, para prevenir el retorno del cáncer después de la terapia principal. NUC-1031 se puede usar como un adyuvante para un paciente que se ha sometido a un tratamiento quirúrgico del cáncer y/o radioterapia para el cáncer.

Se puede emplear NUC-1031 en los procedimientos o usos de la invención en una monoterapia, es decir en tratamientos en los que NUC-1031 proporciona sustancialmente toda la actividad terapéutica que se utiliza en el tratamiento.

20 Alternativamente, los procedimientos o usos de la invención pueden emplear NUC-1031 en una terapia de combinación. En tales realizaciones, NUC-1031 se usa junto con al menos una terapia contra el cáncer adicional. La terapia contra el cáncer adicional puede comprender cirugía y/o radioterapia. Adicional, o alternativamente, la terapia contra el cáncer adicional puede comprender el uso de al menos un agente terapéutico adicional que contribuya al tratamiento del cáncer que debe lograrse. Adecuadamente, dicho agente puede ser un agente quimioterapéutico o un agente biológico utilizado en el tratamiento del cáncer.

30 En una realización apropiada de una terapia de combinación, el NUC-1031 y un agente terapéutico adicional se pueden proporcionar a un paciente al mismo tiempo. En un ejemplo apropiado, el NUC-1031 y un agente terapéutico adicional se pueden formular como parte de la misma composición farmacéutica. Alternativamente, el NUC-1031 y un agente terapéutico adicional se pueden formular por separado para proporcionar al paciente sustancialmente al mismo tiempo.

35 En otra realización apropiada de una terapia de combinación, el NUC-1031 y un agente terapéutico adicional se pueden proporcionar a un paciente en diferentes momentos. El NUC-1031 y un agente terapéutico adicional se pueden proporcionar a un paciente secuencialmente. Por ejemplo, el NUC-1031 se puede proporcionar al paciente antes de la provisión del agente terapéutico adicional. Alternativamente, se puede proporcionar NUC-1031 al paciente después de la provisión del agente terapéutico adicional.

"Agentes terapéuticos adicionales"

NUC-1031 se puede usar en combinación con una amplia gama de agentes terapéuticos adicionales para la prevención o el tratamiento del cáncer. Estos incluyen agentes biológicos, agentes inmunoterapéuticos y agentes quimioterapéuticos que se pueden usar para la prevención o el tratamiento del cáncer.

40 Si bien los ejemplos específicos de agentes adicionales apropiados se consideran en los siguientes párrafos, estos no deben tomarse como limitantes de la gama de agentes terapéuticos adicionales apropiados para usar con NUC-1031. De hecho, la capacidad de NUC-1031 para dirigirse a CSC indica que se puede usar de forma beneficiosa en combinación con cualquier otro agente terapéutico utilizado en la prevención o tratamiento de cáncer, ya sea que dicho agente adicional se dirija a CSC, células no madres cancerosas u otras células o constituyentes implicados en el desarrollo, mantenimiento o diseminación del cáncer.

Los ejemplos de agentes terapéuticos adicionales que se pueden usar en combinación con NUC-1031 incluyen:

(a) un agente antiangiogénico, opcionalmente en el que el agente antiangiogénico es: (i) un inhibidor de la ruta de VEGF, opcionalmente bevacizumab; (ii) un inhibidor de tirosina quinasa, opcionalmente sorafenib, sunitinib o pazopanib; o (iii) un inhibidor de mTOR, opcionalmente everolimus;

50 (b) un agente alquilante;

(c) un antimetabolito;

(d) un antibiótico antitumoral;

- (e) una topoisomerasa;
  - (f) un inhibidor mitótico;
  - (g) un anticuerpo monoclonal;
  - (h) un agente metálico; o
- 5 (i) una inmunoterapia activa o pasiva.

Excepto cuando el contexto lo requiera de otra manera, los agentes terapéuticos adicionales expuestos en la lista anterior deberían considerarse todos apropiados para su uso en cualquiera de las realizaciones de las terapias de combinación con NUC-1031 consideradas anteriormente.

Selección de pacientes

10 El hallazgo de los inventores de que NUC-1031 es capaz de dirigirse a CSC hace posible una serie de procedimientos mediante los cuales es posible determinar si un paciente en particular es probable que se beneficie de recibir NUC-1031 en el tratamiento del cáncer, tal como cáncer recurrente o refractario.

15 De acuerdo con esto, la invención proporciona un procedimiento de determinación de si un paciente con cáncer o un estado precanceroso se beneficiará del tratamiento del cáncer con NUC-1031, comprendiendo el procedimiento: analizar una muestra biológica representativa de cáncer o un estado precanceroso en el paciente para determinar la presencia de CSC; en el que la presencia de CSC en la muestra biológica indica que el paciente se beneficiará del tratamiento con NUC-1031.

20 También se describe en este documento un procedimiento de determinación de un régimen de tratamiento apropiado para un paciente con cáncer o un estado precanceroso, comprendiendo el procedimiento: analizar una muestra biológica representativa de cáncer o un estado precanceroso en el paciente para determinar la presencia de CSC; en el que la presencia de CSC en la muestra biológica indica que un régimen de tratamiento apropiado comprenderá el tratamiento del paciente con NUC-1031.

25 También se describe en este documento el NUC-1031 para uso en la prevención o tratamiento de cáncer en un paciente seleccionado para dicho tratamiento mediante un procedimiento que comprende: analizar una muestra biológica representativa de cáncer o un estado precanceroso en el paciente para determinar la presencia de CSC; en el que la presencia de CSC en la muestra biológica indica que el paciente es apropiado para el tratamiento con NUC-1031.

En realizaciones apropiadas, las CSC en una muestra biológica se pueden identificar mediante su expresión de patrones característicos de marcadores discutidos previamente en la solicitud.

30 El experto en la materia apreciará que hay muchos ejemplos apropiados de muestras biológicas que se pueden usar en realizaciones de la invención tales como las expuestas anteriormente. Adecuadamente, dicha muestra puede incluir células del cáncer o estado precanceroso. Una muestra biológica apropiada puede ser una muestra de tejido, tal como una muestra para uso en histología. Las células en tales muestras se pueden evaluar directamente para determinar su expresión de marcadores de CSC, tales como los expuestos anteriormente.

35 Alternativa o adicionalmente, una muestra biológica apropiada puede comprender moléculas diana representativas de la expresión del gen por células del cáncer o estado precanceroso. Los ejemplos de tales moléculas diana incluyen proteínas codificadas por los genes expresados, o ácidos nucleicos, tales como ARNm, representativos de la expresión génica.

40 Se pueden seleccionar ejemplos apropiados de técnicas mediante las cuales se puede evaluar la expresión de marcadores de CSC con referencia al tipo de muestra. Las técnicas para la investigación de marcadores expresados se usan frecuentemente en el contexto de evaluaciones clínicas (tales como con fines de diagnóstico o pronóstico) y su uso será familiar para aquellos que se requieren para practicarlos en el contexto de la presente invención. Simplemente a modo de ejemplo, en muestras que contienen proteínas, la presencia de marcadores de CSC se puede evaluar mediante técnicas apropiadas usando anticuerpos que reaccionan con los marcadores de CSC en cuestión. Los ejemplos de tales muestras que contienen marcadores de proteína de CSC incluyen muestras de histología (donde la presencia de los marcadores puede visualizarse mediante técnicas de inmunocitoquímica apropiadas), o muestras derivadas de la circulación. En este documento la presencia de CSC circulantes (que se cree que contribuyen a la diseminación del cáncer a través de metástasis) se puede evaluar usando técnicas tales como la citometría de flujo.

En muestras que contienen ácidos nucleicos representativos de la expresión de marcadores de CSC, dicha expresión se puede evaluar mediante técnicas de biología molecular apropiadas, tales como la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando cebadores apropiados.

La invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos.

5 Ejemplos

1 NUC-1031 se dirige preferentemente a CSC

El siguiente estudio ilustra la capacidad de NUC-1031 para dirigirse preferentemente a CSC in vitro, y reducir así la proporción de CSC presentes en poblaciones de células cancerosas.

10 1.1 Comparación de los valores LD<sub>50</sub> para NUC-1031 y gemcitabina en los blastos primarios de leucemia mieloide aguda

Se ensayó NUC-1031 por sus efectos citotóxicos en cultivos primarios de blastos de leucemia mieloide aguda (AML). Se calcularon los valores LD<sub>50</sub> (la concentración requerida para matar el 50% de las células tumorales en cultivo) con respecto a NUC-1031 y gemcitabina.

Ensayo de citotoxicidad in vitro en células de leucemia mieloide aguda primaria

15 Se recogieron muestras de médula ósea en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) de pacientes con leucemia mieloide aguda (AML) no diagnosticada, previamente no tratada. Los blastos de AML se enriquecieron mediante centrifugación en gradiente de densidad usando Histopaque (Sigma, Poole, RU) y posteriormente se mantuvieron en medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) suplementado con 10% de suero bovino fetal (FBS). Las células se trataron con Gemcitabina o NUC-1031 a concentraciones entre 0.25 μM y 10 μM, y se incubaron durante 48 h.  
20 Todos los cultivos se mantuvieron a 37 °C en una atmósfera humidificada con CO<sub>2</sub> al 5%.

Medición de la apoptosis in vitro en células primarias de AML

25 Las células se recogieron y se marcaron con CD34-isotiocianato de fluoresceína (FITC) (BD Biosciences, Buckingham, RU) y luego se resuspendieron en 200 μl de solución reguladora de unión que contenía 4 μL de anexina V marcada con alofocianina (APC) (eBioscience Ltd, Hatfield, RU). La apoptosis se cuantificó en las células CD34<sup>+</sup> AML usando un citómetro de flujo Accuri C6 (Becton Dickinson, CA, EE. UU.). Se adquirieron al menos 10,000 eventos y los datos se analizaron posteriormente usando el software FlowJo (Tree Star Inc., Ashland, OR, EE. UU.). Todos los valores LD<sub>50</sub> (concentración de fármaco requerida para matar el 50% de las células) se derivaron de las curvas dosis-respuesta.

Identificación y cuantificación de subpoblaciones CD34<sup>+</sup>/CD123<sup>+</sup> en células primarias de AML

30 Se identificaron células madre leucémicas putativas por expresión doble de CD34 y CD123. La sensibilidad relativa de estas células a los efectos de gemcitabina y NUC-1031 se evaluó como una función del porcentaje de estas células que permanecieron viables después de la exposición a equivalentes molares de cada agente.

35 Los resultados de este estudio se muestran en la figura 2, en la que el panel A muestra las curvas de dosis-respuesta superpuestas calculadas con respecto a ambos NUC-1031 y gemcitabina, y el panel B es un gráfico de barras que ilustra el valor medio LD<sub>50</sub> significativamente más bajo obtenido con respecto a NUC-1031 ( $1.6 \times 10^{-6}$  M) en comparación con gemcitabina ( $3.1 \times 10^{-6}$  M).

40 Además de la potencia incrementada exhibida por NUC-1031 en comparación con gemcitabina, también mostró una capacidad mejorada para reducir las CSC en los cultivos de blastos de AML a concentraciones micromolares (Figuras 3 y 4). La actividad citotóxica de NUC-1031 medida en este ensayo demostró una potencia incrementada con respecto a ambas las CSC y las células no madres cancerosas en comparación con la gemcitabina.

1.2 Direccionamiento preferencial de CSC por NUC-1031

45 Se investigaron las capacidades respectivas de NUC-1031 y gemcitabina para dirigirse a CSC en la línea celular de AML KG1a. La línea celular KG1a se eligió en particular para este estudio porque las CSC dentro de la población presentan un inmunofenotipo Lin<sup>-</sup>/CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup>/CD123<sup>+</sup> que les permite distinguirse fácilmente de las células no madres cancerosas (también denominadas células cancerosas "a granel") dentro de la población

1.3 Condiciones de cultivo de células KG1a

La línea celular KG1a de leucemia mieloide aguda (AML) se mantuvo en medio RPMI (Invitrogen, Paisley, RU) complementado con 100 unidades/ml de penicilina, 100 μg/ml de estreptomina y suero bovino fetal al 20%.

Posteriormente, las células se dividieron en alícuotas ( $10^5$  células/100  $\mu$ l) en placas de 96 pocillos y se incubaron a 37°C en una atmósfera humidificada al 5% de dióxido de carbono durante 72 h en presencia de NUC-1031 o gemcitabina en concentraciones que se determinaron experimentalmente para cada compuesto. Además, se llevaron a cabo cultivos de control a los que no se añadió ningún fármaco. Las células se recogieron posteriormente por centrifugación y se analizaron mediante citometría de flujo usando el ensayo de anexina V.

#### 1.4 Medición de la apoptosis in vitro

Las células cultivadas se recogieron por centrifugación y luego se resuspendieron en 195  $\mu$ l de solución reguladora rica en calcio. Posteriormente, se añadieron 5  $\mu$ l de anexina V (Caltag Medsystems, Botolph Claydon, RU) a la suspensión celular y las células se incubaron en la oscuridad durante 10 minutos antes del lavado. Finalmente, las células se resuspendieron en 190  $\mu$ l de solución reguladora rica en calcio junto con 10  $\mu$ l de yoduro de propidio. La apoptosis se evaluó mediante citometría de flujo inmunofluorescente de doble color como se describió previamente. Posteriormente, se calcularon los valores LD<sub>50</sub> (la dosis requerida para matar el 50% de las células en un cultivo) para cada nucleósido análogo y ProTide.

#### 1.5 Identificación inmunofenotípica del compartimiento de células madre leucémicas

Se cultivaron células KG1a durante 72 horas en presencia de un amplio intervalo de concentraciones de cada análogo de nucleósido y sus respectivos ProTides. A continuación, las células se cosecharon y se marcaron con un cóctel de anticuerpos antilínaje (PE-cy7), anti-CD34 (FITC), anti-CD38 (PE) y anti-CD123 (PERCP cy5). La subpoblación que expresa un fenotipo de células madre leucémicas (LSC) se identificó posteriormente y se expresó como un porcentaje de todas las células viables que quedan en el cultivo. Los porcentajes de células madre restantes se representaron a continuación gráficamente en un gráfico dosis-respuesta y los efectos de los ProTides se compararon con el nucleósido parental.

Se cultivaron células KG1a durante 72 horas en presencia de un amplio intervalo de concentraciones de cada compuesto ensayado. Las células se cosecharon y se marcaron con un cóctel de anticuerpos antilínaje (PE-cy7), anti-CD34 (FITC), anti-CD38 (PE) y anti-CD123 (PERCP cy5). La subpoblación que expresa un fenotipo CSC se identificó posteriormente y se expresó como un porcentaje de todas las células viables que quedaban en el cultivo. Los porcentajes de CSC restantes se representaron a continuación en un gráfico de dosis-respuesta y los efectos del NUC-1031 (y sus isómeros purificados) se compararon con gemcitabina.

#### 1.6 Análisis estadístico

Los datos obtenidos en estos experimentos se evaluaron usando ANOVA de una vía. Todos los datos se confirmaron como gaussianos o una aproximación gaussiana usando la prueba ómnibus K2. Los valores de LD<sub>50</sub> se calcularon a partir de la regresión no lineal y la línea de análisis de mejor ajuste de las curvas dosis-respuesta sigmoidales. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el software Graphpad Prism 6.0 (Graphpad Software Inc., San Diego, CA).

En las células KG1a, NUC-1031 (y sus isómeros purificados) mostraron potencia in vitro incrementada en comparación con gemcitabina (Figura 5). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la potencia entre la mezcla no separada y los isómeros purificados de NUC-1031. Además, NUC-1031 mostró una orientación preferencial de CSC en comparación con Gemcitabina. Esto se observó consistentemente a concentraciones submicromolares de ProTide (Figura 6). De nuevo, los dos isómeros purificados de NUC-1031 no mostraron diferencias significativas en su capacidad para dirigirse a CSC en nuestro sistema experimental.

#### 2 NUC-1031 es capaz de tratar cánceres recurrentes o refractarios en pacientes humanos

Los siguientes datos se generaron en estudios clínicos de NUC-1031 en pacientes humanos con cánceres adelantados progresivos que son refractarios a, o han recaído sobre, todas las terapias convencionales que se han usado hasta la fecha. Los resultados ilustran claramente la capacidad de NUC-1031 para tratar con éxito cánceres refractarios.

Aunque los objetivos principales de la parte de escalada de dosis del estudio fueron determinar la dosis recomendada de fase II (RP2D) y el perfil de seguridad, los objetivos secundarios incluyeron determinar el perfil PK, sin embargo, el tratamiento eficaz de pacientes con una variedad de cánceres refractarios también se ha observado como parte de este estudio.

Se ha ingresado a un total de 68 pacientes en este estudio de escalada de dosis, de los cuales 49 fueron evaluables para la respuesta clínica en el sentido de que han recibido al menos 2 ciclos de NUC-1031 y, por lo tanto, eran elegibles para una evaluación RECIST 1.1.

Tabla 1: Mejor respuesta global en el estudio ProGem1

Pacientes	n = 68	Mejor respuesta global (hasta la fecha)
Evaluable	n = 49	Respuestas parciales 5 (10%) Enfermedad estable 33 (67%) Enfermedad progresiva 11 (22%)
No evaluable	n = 19	

Se administró NUC-1031 como una inyección en bolo lento intravenoso de 5 a 30 minutos.

- Programa A: se administró NUC-1031 los días 1, 8, 15 de un ciclo de 4 semanas.
- Programa B: se administró NUC-1031 los días 1, 5, 8, 12, 15, 19, de un ciclo de 4 semanas.

5 Pacientes evaluables [n = 49]

Los pacientes evaluables eran pacientes que recibieron  $\geq 2$  ciclos de NUC-1031 y, por lo tanto, eran elegibles para una evaluación de RECIST 1.1 al final del ciclo 2. Donde la duración de la respuesta a la enfermedad, medida en meses, es seguida por un "+" esto indica un control continuo de la enfermedad a partir de la última fecha de corte.

Cáncer de mama paciente 004: enfermedad estable

10 Mujer (67 años)

Se diagnosticó con carcinoma ductal invasivo de grado 2 de mama (ER+ve, HER2-ve) en 2002. Como tratamiento de primera línea, se le administró cirugía y recibió adyuvante epirubicina + docetaxel, radioterapia y terapia de hormonas de mantenimiento con tamoxifeno, luego anastrozol hasta 2010. En 2010, la paciente fue diagnosticada con enfermedad metastásica en el hueso y fue tratada con radioterapia paliativa y comenzó con ibondronato y fulvestrant como tratamiento de segunda línea.

15

Se observó progresión de la enfermedad en 2012 y se le administró quimioterapia de tercera línea con capecitabina y navelbina durante 4 meses, pero mientras estaba en tratamiento su enfermedad progresó, con nuevas metástasis hepáticas y pulmonares. La paciente comenzó con un inhibidor de PI3K (estudio de fase 1) en septiembre de 2012 y recibió 2 ciclos (2 meses), pero la enfermedad progresó, con un aumento en el tamaño de las metástasis hepáticas, durante el tratamiento.

20

Comenzó NUC-1031 el 3 de diciembre de 2012 en 500 mg/m<sup>2</sup> semanalmente. Completó 6 ciclos y toleró bien el tratamiento. El paciente tenía una enfermedad estable al final del estudio y solicitó la continuación compasiva de un séptimo ciclo de NUC-1031, luego se eligió para una "descanso de medicamentos" después del ciclo 7. Se mantuvo estable durante otros 5 meses sin tratamiento adicional antes de la progresión de la enfermedad.

25 Enfermedad estable para RECIST (12 meses).

Cáncer de ovario paciente 005: enfermedad estable

Mujer (58 años)

Se diagnosticó con cáncer de ovario seroso bilateral en estadio 3c (grado 3) en 2009. El 23 de junio de 2009, se realizó una histerectomía abdominal total y salpingooforectomía, pero los depósitos omentales irsecables se dejaron in situ.

30

Como primera línea de quimioterapia, en octubre de 2009 el paciente recibió 6 ciclos de carboplatino + paclitaxel, pero desarrolló una reacción alérgica al carboplatino en el ciclo de tratamiento final.

La primera recaída fue 8 meses después y en diciembre de 2010 el paciente comenzó con 6 ciclos de Caelyx más inhibidor de VEGFR-2 (estudio clínico de fase II), permaneciendo en monoterapia con VEGFR-2 como mantenimiento. La segunda recaída fue 9 meses después, con un aumento en CA125 y evidencia de CT de una masa pélvica del lado izquierdo que mide 3.2 cm. Comenzó con quimioterapia de tercera línea y recibió 6 ciclos de paclitaxel semanal y hubo una respuesta moderada inicial con una caída en CA125 y una cierta reducción en el volumen tumoral. La progresión de la enfermedad se confirmó 5 meses después con niveles crecientes de CA125 y aumento del tamaño tumoral. El paciente recibió la última dosis de paclitaxel en marzo de 2012.

35

- 5 Comenzó NUC-1031 el 7 de enero de 2013 a 500 mg/m<sup>2</sup> semanalmente. Se completaron 6 ciclos según el protocolo del estudio, con enfermedad estable, y luego otros 6 meses de NUC-1031, lo que dio como resultado 12 meses de tratamiento. La paciente toleró bien el tratamiento. Los niveles de CA125 se redujeron de 208 al inicio del estudio a 140 al final del ciclo 6. El paciente decidió suspender el tratamiento después de 12 meses y recayó 3 meses después de suspender el tratamiento.
- Enfermedad estable para RECIST (15 meses).
- Colangiocarcinoma paciente 006: enfermedad estable
- Hombre (43 años)
- 10 Se diagnosticó con un colangiocarcinoma primario en 2009. Se realizó un procedimiento de Whipple y al paciente se le dieron 6 ciclos de adyuvante gemcitabina. En la recurrencia de la enfermedad en febrero de 2012, el paciente comenzó en CapeOx hasta julio de 2012. Más tarde ese año, una CT mostró metástasis óseas y éstas se trataron con un ciclo de radioterapia en la parte inferior de la espalda.
- 15 Comenzó NUC-1031 el 31 de enero de 2013 a 375 mg/m<sup>2</sup> dos veces semanalmente, y completó 2 ciclos. Cambió al programa A a 500 mg/m<sup>2</sup> y recibió 1 dosis adicional. Reducción en CA19.9 de 125,002 a 59,285 después de solo dos dosis de NUC-1031. La CT reveló una reducción en la lesión pulmonar metastásica y el ganglio linfático desde el inicio del estudio.
- Enfermedad estable para RECIST (3 meses).
- Cáncer colorrectal paciente 007: enfermedad estable
- Hombre (73 años)
- 20 Se le diagnosticó con cáncer colorrectal en 2008. Después de 6 ciclos de FOLFOX se le extirpó el tumor primario en abril de 2009. Una cirugía adicional en agosto de 2009 cuando se realizaron una hepatectomía e ileostomía derecha. En julio de 2010 se incluyó en el ensayo PICCOLO (panitumumab + irinotecan). Seis meses después recibió ablación por radiofrecuencia (RFA) más stent biliar para complicaciones adicionales. En diciembre de 2011, recibió 7 ciclos de cetuximab + irinotecan + 5-FU, pero con la progresión de la enfermedad posterior.
- 25 Comenzó NUC-1031 el 11 de febrero de 2013 a 375 mg/m<sup>2</sup> dos veces semanalmente, y completó 0.5 de un ciclo. Luego de los retrasos en el tratamiento, y a pedido del paciente por conveniencia, se le cambió a un horario semanal de 500 mg/m<sup>2</sup> y completó 2 ciclos. Durante el período de tratamiento desarrolló trombocitopenia (G3) (posible relacionado con la esplenomegalia observada al inicio del estudio). Una ecografía realizada el 25 de febrero de 2013 mostró compresión de la vena porta, con posible trombosis, como resultado de la esplenomegalia.
- 30 CEA de 361 a 286 y CA19.9 de 3,151 a 2.957.
- Enfermedad estable para RECIST (3 meses).
- Cáncer de origen primario desconocido paciente 008: enfermedad estable
- Mujer (37 años)
- 35 Se diagnosticó con una masa retroperitoneal y enfermedad metastásica de origen primario desconocido en 2012. Avance rápido del tumor después de 4 ciclos de gemcitabina + cisplatino desde agosto de 2012.
- Comenzó NUC-1031 el 12 de febrero de 2013 a 375 mg/m<sup>2</sup> dos veces semanalmente, y completó 2 ciclos. Durante el ciclo 1, la paciente tuvo alivio sintomático en el tratamiento y una mejoría general en el estado de ánimo y el bienestar. Desarrolló transaminitis transitoria (G3) (ALT y AST). La linfedema, que estaba presente al inicio del estudio, progresó durante el ciclo 2.
- 40 También desarrolló un derrame pleural (G3) que se evaluó como poco probable que esté relacionado con el fármaco del estudio.
- Enfermedad estable para RECIST (3 meses).
- Cáncer de endometrio paciente 010: enfermedad estable
- Mujer (60 años)
- 45 Se diagnosticó con cáncer de endometrio (estadio IV, grado 3) en 2012. En febrero de 2012, la paciente recibió radioterapia para una masa pélvica y 6 ciclos de carboplatino + paclitaxel. En progresión de la enfermedad en

noviembre de 2012 recibió 3 ciclos de paclitaxel, y luego progresó rápidamente a través de un ciclo de Megace en enero de 2013.

- 5 Comenzó NUC-1031 el 19 de marzo de 2013 a 750 mg/m<sup>2</sup> semanalmente, y completó 1 ciclo. Desarrolló neutropenia (G3) durante el ciclo 1, que se resolvió después de unos días, después de la intervención con GCSF. La dosis se redujo a 500 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 2 y completó 5 ciclos a esta dosis. El paciente tenía anemia transitoria de grado 3. Reducción en CA125 de 727 a 488. El paciente tenía enfermedad estable en estudio y esto se mantuvo durante otros 3 meses después de suspender NUC-1031.

Enfermedad estable para RECIST (9 meses).

Carcinosarcoma uterino del paciente 011: enfermedad estable

- 10 Mujer (67 años)

Se diagnosticó con carcinosarcoma uterino (MMMT recurrente del útero) y metástasis ganglionares hepáticas, pulmonares y paraaórticas. La cirugía se realizó en junio de 2011 con una histerectomía radical y salpingo-ooforectomía bilateral. Desde junio de 2011 hasta noviembre de 2012, la paciente recibió 6 ciclos completos de adyuvante cisplatino y doxorubicina (buena respuesta al tratamiento con remisión casi completa).

- 15 En junio de 2012 se realizó una nueva cirugía con exenteración anterior, disección del recto y reparación y formación de conducto ileal con anastomosis de extremo a extremo. Cirugía adicional en junio de 2012, cuando se le realizó una laparotomía con implante de un uréter en su conducto ileal y un procedimiento de Hartman para una fístula rectal. En marzo de 2013, completó 6 ciclos de paclitaxel semanal, pero con progresión tumoral durante este ciclo de tratamiento.

- 20 Comenzó NUC-1031 el 15 de abril de 2013 a 375 mg/m<sup>2</sup> dos veces a la semana y completó 2.6 ciclos. El paciente tenía una enfermedad estable para RECIST con una reducción en el volumen tumoral del 26%. Durante el tratamiento tuvo neutropenia transitoria (G3) y una baja hemoglobina (G2). A petición del paciente, se cambió al programa semanal a 625 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 4 y se completó 1 ciclo adicional. El final del ciclo 4 (final del mes 4) la CT en agosto de 2013 mostró una enfermedad progresiva. Aparecieron tres nuevas lesiones: 2 en el pulmón y 1 ganglio linfático retro del cava. La lesión original en el hígado había seguido disminuyendo de tamaño y la otra lesión diana en el pulmón se había mantenido estable. El paciente fue retirado del estudio.

- 25

Enfermedad estable para RECIST (4 meses).

Colangiocarcinoma paciente 012: enfermedad estable

Mujer (48 años)

- 30 Se diagnosticó con colangiocarcinoma en estadio IV, grado 3 en 2013 después de una investigación para el dolor abdominal del lado derecho. La CT mostró metástasis hepáticas, pulmonares y peritoneales. Desde enero hasta abril de 2013, la paciente recibió 3 ciclos de cisplatino + gemcitabina, con progresión rápida de la enfermedad.

- 35 Comenzó NUC-1031 el 16 de mayo de 2013 a 375 mg/m<sup>2</sup> dos veces semanalmente, y completó 3 ciclos. A petición del paciente, se cambió al programa semanal a 625 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 4, completó 3 ciclos adicionales y se toleró bien el tratamiento. La paciente tenía una enfermedad estable al final del estudio y tenía otros dos ciclos, con un total de 8 ciclos.

Enfermedad estable para RECIST (8 meses).

Cáncer de cuello uterino paciente 013: respuesta parcial

Mujer (51 años)

- 40 Se diagnosticó con cáncer de cuello uterino de células escamosas inoperable y poco diferenciado (estadio 2b, G2/3) en septiembre de 2011. Fue tratada con cisplatino (4 ciclos) más radioterapia y el médico remitente dijo que tenía una "buena respuesta".

- 45 En julio de 2012, el paciente desarrolló progresión de la enfermedad y, entre julio de 2012 y noviembre de 2012, recibió 6 dosis de carboplatino + paclitaxel más Cediranib (rastros CIRCCA) y logró una enfermedad estable. En abril de 2013, el escáner por MRI mostró progresión de la enfermedad con un aumento de la afectación de los ganglios linfáticos ilíacos.

Comenzó con NUC-1031 el 28 de mayo de 2013 a 750 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 2 ciclos. La dosis se redujo a 625 mg/m<sup>2</sup> y completó 4 ciclos adicionales. Tuvo un menor dolor pélvico antes del estudio, pero tuvo alivio de este dolor en el tratamiento, con una reducción significativa del uso de opiáceos.

5 El paciente tuvo problemas con las infecciones recurrentes del tracto urinario antes de comenzar con NUC-1031 y durante el tratamiento debido a los stents metálicos ureterales bilaterales.

El paciente tuvo una respuesta parcial al finalizar el estudio ProGem1 y luego completó otros 3 ciclos con una dosis reducida de 500 mg/m<sup>2</sup> semanal, con un total de 9 ciclos de NUC-1031. El tumor del paciente se ha reducido en la medida en que estaba siendo reevaluada para una cirugía de reducción de la masa adicional.

Respuesta parcial para RECIST (9 meses, PFS 11 meses).

10 Mesotelioma paciente 014: enfermedad progresiva

Mujer (51 años)

15 Paciente diagnosticado con un mesotelioma de epitelio recurrente en el hemitórax derecho en 2012. Recibió 4 ciclos de permetrexed + carboplatino. En la progresión en diciembre de 2012 ingresó a un estudio clínico para recibir dasatinib, pero no respondió y tuvo progresión de la enfermedad. Comenzó con NUC-1031 el 20 de junio de 2013 a 750 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 1 ciclo. La dosis se redujo a 625 mg/m<sup>2</sup> y completó 1 ciclo adicional. Se retiró del estudio. Enfermedad progresiva.

Cáncer (Primaria desconocida) paciente 015: Respuesta parcial

Hombre (54 años)

20 Se le diagnosticó con cáncer de origen primario desconocido en septiembre de 2012, después de haber sido investigado por síntomas de dolor abdominal.

25 Se observó en ese momento que tenía metástasis hepáticas y pulmonares. Una biopsia de hígado mostró un carcinoma poco diferenciado con diferenciación glandular focal. Recibió 8 ciclos de epirubicina + cisplatino + capecitabina desde octubre de 2012 hasta abril de 2013 a el estudio clínico "CUP" pero desarrolló una enfermedad progresiva con edema, derrame pleural y ascitis, con un aumento de peso de 20 kg. El paciente experimentó náuseas y vómitos intensos y fatiga en este régimen.

30 Comenzó con NUC-1031 el 20 de junio de 2013 a 750 mg/m<sup>2</sup> semanalmente, y recibió 2 dosis. La dosis se redujo a 625 mg/m<sup>2</sup> para completar el ciclo 1 y recibió 5 ciclos adicionales a la dosis más baja. Al ingresar al estudio, el paciente presentaba un marcado edema de la extremidad inferior y ascitis abdominal (aproximadamente 20 kg). Después del ciclo 1 se informó que el edema y la ascitis habían desaparecido y que el paciente se sentía mucho mejor. Durante el ciclo 1, el día 8 desarrolló trombocitopenia (G3), linfopenia (G3) y neutropenia (G2), lo que provocó un retraso de dos semanas en el tratamiento. El escáner al final del ciclo 2 mostró una reducción en todas las lesiones diana con una evaluación RECIST de la enfermedad estable. El escáner al final del ciclo 4 mostró una reducción adicional en todas las lesiones diana, con una evaluación RECIST de una respuesta parcial, que se mantuvo hasta el final del estudio. Se solicitó la continuación compasiva y completó 3 ciclos adicionales a esta dosis.

35 Estaba empezando a mostrar una disminución constante en los recuentos sanguíneos después del día 8 de cada ciclo. A partir del ciclo 10 la dosis se redujo aún más a 500 mg/m<sup>2</sup> con el efecto deseado y completó otros 10 ciclos (19 en total).

40 En escáner CT más reciente del 9 de enero de 2015 mostró una respuesta parcial sostenida (aproximadamente una reducción del 58% en el tamaño del tumor) y el nodo mesentérico diana ya no era visible. Tenía acumulación de líquido en ambas piernas durante el ciclo 10 pero respondió bien a la espironolactona y se resolvió por completo. Se reemplazó la línea Hickman el 12 de diciembre de 2014 después de 19 meses in situ, sin efectos adversos. El paciente permanece clínicamente muy bien. Después de las discusiones con CI, el paciente está feliz de tener un descanso en el tratamiento y se remitirá de nuevo al oncólogo para analizar las opciones.

Respuesta parcial para RECIST (más de 20 meses, PFS más de 24 meses) en curso.

45 Cáncer de pulmón paciente 017: respuesta parcial

Mujer (60 años)

50 Se diagnosticó con adenocarcinoma de pulmón, con metástasis pulmonar, hepática y suprarrenal en septiembre de 2011. También tuvo enfermedad en los ganglios linfáticos mediastínicos, intraabdominales y cervicales. La paciente tuvo una pleurodesis realizada en diciembre de 2011, seguida de 3 ciclos de cisplatino + pemetrexed, que completó en marzo de 2012 y logró una respuesta parcial. Desde marzo hasta septiembre de 2012 recibió un total de 6 ciclos

de docetaxel, con una respuesta parcial. En abril de 2013 tuvo progresión de la enfermedad y volvió a presentar un desafío con docetaxel, pero progresó a lo largo de 2 ciclos de docetaxel.

5 Comenzó con NUC-1031 en julio de 2013 a 750 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 1 dosis. La dosis se redujo a 625 mg/m<sup>2</sup> y recibió 2 dosis para completar el ciclo 1 y completó 5 ciclos adicionales. Tuvo 4 semanas de retraso en el tratamiento debido a infecciones pulmonares y plaquetas bajas. Respuesta significativa en los ganglios linfáticos enfermos, particularmente en el cuello. Las lesiones diana continuaron disminuyendo, lo cual fue evidente en los escáneres CT posteriores al ciclo 2 y al ciclo 4. En este estadio, la evaluación RECIST clasificó la respuesta como enfermedad estable.

10 Al final del ciclo 6, un escáner CT mostró una reducción adicional y la evaluación RECIST se cambió a una respuesta parcial en todas las lesiones diana al final del estudio. Se solicitó la continuación en base al uso compasivo y completó 3 ciclos adicionales. El paciente toleró bien NUC-1031, con mejoría en voz ronca y disfagia. El escáner CT al final del ciclo 9 del 17 de abril de 2014 mostró una enfermedad progresiva con un crecimiento en las lesiones objetivo y nuevas lesiones hepáticas. Se retiró del estudio.

Respuesta parcial para RECIST (3 meses, PFS 10 meses).

15 Cáncer de pulmón paciente 018: enfermedad estable

Mujer (65 años)

20 Se diagnosticó con cáncer de pulmón de células escamosas en mayo de 2011. Recibió gemcitabina + cisplatino, 6 ciclos desde junio hasta octubre de 2011 dentro del ensayo SQUIRE. Recaída de la enfermedad en abril de 2012 y recibió radioterapia paliativa de fracción única en el hilio derecho y 6 ciclos de docetaxel desde mayo hasta septiembre de 2012.

Enfermedad progresiva octubre de 2012. Se inició erlotinib en diciembre de 2012 durante 3 meses, pero en marzo de 2013 se encontró que tenía enfermedad progresiva en el hilio derecho.

25 Comenzó con NUC-1031 el 25 de julio de 2013 a 625 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 4 ciclos. Enfermedad estable para RECIST (4 meses). Paciente retirada del estudio debido al deterioro sintomático causado por la obstrucción de la vena cava. Recibió radioterapia de dosis baja en un intento de resolver la obstrucción y recomenzó NUC-1031 en el programa de acceso compasivo. Después de una dosis adicional de NUC-1031, se acordó retirar al paciente del programa de acceso compasivo. La mayor parte de la enfermedad del paciente se mantuvo estable al retirarse.

Enfermedad estable para RECIST (4 meses).

Cáncer de trompa de Falopio paciente 021: respuesta parcial

30 Mujer (61 años)

35 Se le diagnosticó adenocarcinoma endometriode de ovario en estadio 2a, grado 2a en 2008. Recibió 6 ciclos de carboplatino + paclitaxel, finalizado en octubre de 2008. En junio de 2011 recayó y se observó que tenía hígado pleural, subcapsular, omental y nódulos tumorales mesentéricos y fue reclutado en el estudio ICON6, recibiendo 6 ciclos de carboplatino más paclitaxel +/- cediranib. Ella logró una respuesta parcial a la terapia. Se mantuvo en el mantenimiento con cediranib hasta marzo de 2012, cuando se interrumpió el tratamiento debido al aumento de CA125 y la enfermedad peritoneal progresiva.

40 Desde marzo a julio de 2012 recibió 6 ciclos de paclitaxel semanalmente con buena respuesta radiológica inicialmente de la enfermedad peritoneal. En febrero de 2013, se descubrió que tenía un nuevo derrame y un aumento en la enfermedad peritoneal. Comenzó con carboplatino + paclitaxel e inhibidor de AKT diariamente en el estudio AKTRES, pero con progresión de la enfermedad (nueva masa pélvica) en mayo de 2013 después de 3 ciclos.

45 Comenzó con NUC-1031 el 28 de agosto de 2013 a 625 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 6 ciclos. Se observó una reducción significativa en la ascitis abdominal; necesitaba drenaje cada dos semanas antes de comenzar el estudio y no ha necesitado drenaje adicional desde el inicio con NUC-1031. La paciente toleró bien el NUC-1031. Enfermedad estable para RECIST al final del estudio. Solicitó la continuación en base al uso compasivo y completó un ciclo adicional. El escáner CT al final del ciclo 7 del 26 de febrero de 2014 mostró una reducción adicional en el volumen del tumor que confirmó la respuesta parcial para RECIST. Respuesta CA125 significativa: reducción del 91% desde el inicio (372) hasta el final del ciclo 6 (35).

50 La mejor respuesta global hasta la fecha es la respuesta parcial (3 meses) según RECIST o la respuesta parcial (9 meses) según los criterios de GCIG.

Respuesta parcial.

Cáncer de origen primario desconocido paciente 024: enfermedad progresiva

Mujer (51 años)

5 Se diagnosticó con cáncer de origen primario desconocido en abril de 2012. Recibió CAPOX, 8 ciclos desde abril hasta octubre de 2012. Recibió irinotecán en octubre de 2012 con la adición de bevacizumab en noviembre de 2012, pero sin respuesta.

Comenzó con NUC-1031 el 26 de septiembre de 2013 a 675 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 2 ciclos. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una enfermedad progresiva.

Enfermedad progresiva.

10 Mesotelioma paciente 025: enfermedad estable

Hombre (54 años)

Se le diagnosticó con mesotelioma epitelioide T4 N3 M0 del pulmón derecho en marzo de 2013. Recibió 4 ciclos de pemetrexed + cisplatino desde mayo hasta agosto de 2013.

15 Comenzó con NUC-1031 el 23 de octubre de 2013 a 725 mg/m<sup>2</sup> semanal y completó 4 ciclos. El escáner CT al final de C4 mostró enfermedad progresiva. Se retiró del estudio.

Enfermedad estable para RECIST (4 meses).

Cáncer colorrectal paciente 026: enfermedad estable

Mujer (63 años)

20 Se diagnosticó con cáncer colorrectal, T4 N2, con metástasis pulmonar y de vejiga en febrero de 2007. Recibió adyuvante FOLFOX, 12 ciclos, noviembre de 2007. Desarrolló enfermedad recurrente pélvica y recibió capecitabina 2009.

En recaída en 2012 recibió FOLFIRI en septiembre de 2012 y capecitabina + irinotecán hasta enero de 2013. En julio de 2013, la CT mostró enfermedad progresiva, recurrencia del tumor presacro que causa destrucción del sacro y un nódulo pulmonar.

25 Comenzó con NUC-1031 el 17 de octubre de 2013 a 725 mg/m<sup>2</sup> semanalmente, y completó 4 ciclos. Mejora significativa en el dolor, con una reducción drástica en el uso de la analgesia opiode. El escáner CT al final del ciclo 4 mostró enfermedad progresiva.

Enfermedad estable para RECIST (4 meses).

Cáncer de ovario paciente 027: enfermedad estable

30 Mujer (46 años)

35 Se diagnosticó con adenocarcinoma seroso de ambos ovarios en diciembre de 2009. Tras una histerectomía total, salpingo-ooforectomía bilateral y omentectomía, recibió 6 ciclos de carboplatino + paclitaxel y logró una respuesta completa en mayo de 2010. La paciente recayó en junio de 2011 y recibió 6 ciclos de carboplatino + paclitaxel (estudio ICON6). En diciembre de 2012, la paciente recibió otros 3 ciclos de gemcitabina + carboplatino, pero tuvo una reacción alérgica al carboplatino que se cambió a cisplatino. Completó 6 ciclos en total y logró una respuesta parcial en abril de 2013. Esto fue seguido por 6 meses de tamoxifeno, pero en julio de 2013 un escáner CT mostró la participación de nuevos ganglios linfáticos mediastínicos y los niveles de CA125 aumentaron. Un escáner CT en octubre de 2013 mostró un aumento en el tamaño de los depósitos peritoneales.

40 Comenzó con NUC-1031 el 30 de octubre de 2013 a 725 mg/m<sup>2</sup> semanalmente. Desarrolló ALT elevado (G3) después del ciclo 1 día 1, elevado desde 96 al inicio del estudio a 256 el día 7, un DLT para esta cohorte. ALT se recuperó a G2 unos días más tarde para permitir que el paciente reciba el ciclo 1 día 8 a la dosis reducida de 675 mg/m<sup>2</sup>. Completó el ciclo 1 a dosis reducida y pasó a recibir 3 ciclos adicionales. La paciente logró una enfermedad estable para RECIST con una reducción en el volumen tumoral del 23%. CA125 se ha reducido desde 188 al inicio del estudio hasta 99 al final del ciclo 6. La dosis se redujo aún más para el ciclo 5 a 625 mg/m<sup>2</sup> debido a la neutropenia leve. Completó el estudio a esta dosis sin problemas adicionales. Se solicitó la continuación compasiva y se recibió 1 ciclo adicional.

Enfermedad estable para RECIST (8 meses).

Cáncer de mama paciente 029: enfermedad estable

Mujer (53 años)

5 Se diagnosticó con cáncer de mama metastásico (ER y PGR positivo), con múltiples metástasis óseas y hepáticas en 2002. Recibió 6 ciclos de FEC, radioterapia adyuvante y tamoxifeno con goserelina. En 2010, se detectaron y trataron nuevas metástasis óseas con Zoladex, letrozol y pamidronato. Julio de 2011, cambió a Zoladex y exemestano, que se aumentó con Faslodex en noviembre. En la progresión posterior en 2012 recibió capecitabina + Zometa, seguido de paclitaxel durante 3 ciclos solamente. Comenzó el tratamiento con rucaparib en mayo de 2013. Progresión de la enfermedad hepática en julio de 2013 y recibió gemcitabina + carboplatino durante 3 ciclos.

10 Comenzó con NUC-1031 el 14 de noviembre de 2013 a 725 mg/m<sup>2</sup> semanalmente. Completó 3 ciclos. Lamentablemente sufrió un paro cardíaco fatal mientras estaba en casa, no relacionado con el estudio.

Enfermedad estable para RECIST (4 meses).

Cáncer de ovario paciente 030: enfermedad estable

Mujer (62 años)

15 Se diagnosticó con adenocarcinoma seroso de ovario en 2012. Recibió adyuvante carboplatino + paclitaxel durante 6 ciclos hasta julio de 2012, logró una respuesta completa. La enfermedad progresiva en agosto de 2013, comenzó carboplatino + caelyx, progresó después de 3 ciclos.

20 Comenzó con NUC-1031 el 21 de noviembre de 2013 a 725 mg/m<sup>2</sup> semanalmente. Completó 3 ciclos y toleró bien el medicamento del estudio. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una enfermedad estable para RECIST. Problemas dietéticos inestables que resultan en deshidratación y malnutrición, lo que ocasionó retrasos prolongados en el tratamiento. Se retiró del estudio.

Enfermedad estable para RECIST (3 meses).

paciente 031 Colangiocarcinoma: enfermedad progresiva

Mujer (76 años)

25 Se diagnosticó con colangiocarcinoma en julio de 2013. El 27 de julio se sometió a un procedimiento modificado de Whipple. En el momento de la cirugía, se observó que tenía metástasis hepáticas múltiples. En agosto de 2013, comenzó con gemcitabina + oxaliplatino, que se administraba cada dos semanas durante 6 ciclos.

Comenzó con NUC-1031 el 9 de diciembre de 2013 a 750 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 2 ciclos. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró enfermedad progresiva.

30 Se retiró del estudio.

Cáncer de esófago paciente 032: enfermedad estable

Hombre (56 años)

35 Se le diagnosticó con carcinoma de células escamosas del esófago en junio de 2013. Recibió 3 ciclos de cisplatino + capecitabina desde julio hasta septiembre de 2013. Enfermedad progresiva con metástasis peritoneales y pulmonares. El stent esofágico se insertó en octubre de 2013 para controlar los síntomas de disfagia.

Comenzó con NUC-1031 el 16 de diciembre de 2013 a 750 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 2 ciclos. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una enfermedad estable para RECIST. El paciente estaba teniendo dificultades con una fístula pulmonar/traqueal. Se retiró del estudio debido a la progresión clínica. Enfermedad estable para RECIST (2 meses).

40 Colangiocarcinoma paciente 033: enfermedad estable

Mujer (37 años)

Se diagnosticó con colangiocarcinoma avanzado en junio de 2013 con metástasis de ganglio linfático para aórtico, peritoneal y hepático y pequeños nódulos pulmonares. En junio tuvo una biopsia de hígado que mostró un probable colangiocarcinoma poco diferenciado, con algunas características que sugieren un hígado primario. En julio de 2013,

- 5 comenzó la quimioterapia con gemcitabina y cisplatino y recibió 6 ciclos, omitiendo parte del ciclo 5, debido a un ingreso por sepsis neutropénica. Desafortunadamente, aunque su escáner de intervalo mostró una respuesta parcial, su escáner CT posterior al tratamiento el 28 de noviembre de 2013 mostró una enfermedad progresiva con una lesión hepática estable, pero un aumento en el tamaño de sus metástasis pulmonares y algunos depósitos peritoneales nuevos. Ella también es conocida por tener una lesión esternal lítica.
- Comenzó con NUC-1031 el 3 de enero de 2014 a 750 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 4 ciclos. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una enfermedad estable para RECIST. El escáner CT al final del ciclo 4 mostró una enfermedad progresiva y el paciente fue retirado del estudio.
- Enfermedad estable para RECIST (3 meses)
- 10 Carcinoma renal paciente 036: enfermedad estable
- Hombre (20 años)
- Se le diagnosticó con carcinoma renal de células medulares en diciembre de 2012. Recibió 5 ciclos de gemcitabina + paclitaxel + carboplatino desde enero hasta julio de 2013, dando como resultado una enfermedad estable durante el tratamiento. El paciente tuvo retrasos en el tratamiento debido a trombocitopenia y neutropenia que requirió intervención con G-CSF. Tras una recaída en julio de 2013, comenzó gemcitabina + doxorrubicina, pero progresó a lo largo de 2 ciclos en septiembre de 2013.
- 15 Comenzó con NUC-1031 el 28 de enero de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanal y completó 4 ciclos. El paciente experimentó fatiga y cansancio durante el ciclo 1. Lorazepam se suspendió y se puso mucho más alerta. Informó que estaba tolerando NUC-1031 mucho mejor que su régimen anterior. El escáner CT al final del ciclo 4 mostró una enfermedad estable sostenida con una reducción en el volumen tumoral del 7%. Después del ciclo 5, el día 1 desarrolló trombocitopenia (G3) y la dosis se redujo a 750 mg/m<sup>2</sup>. Después del ciclo 5 del día 8 se desarrolló fatiga, pérdida de apetito y no se presentó para ningún otro tratamiento. Se retiró del estudio debido a la progresión clínica.
- 20 Enfermedad estable para RECIST (5 meses).
- Cáncer de páncreas paciente 037: respuesta parcial
- 25 Mujer (70 años)
- Se diagnosticó con adenocarcinoma de páncreas en marzo de 2013. El procedimiento de Whipple se planificó para el 26 de marzo de 2013, pero debido a adherencias extensas, el cáncer no se pudo resear, pero se tomaron biopsias. La resección de cuña hepática confirmó enfermedad metastásica. La histología mostró adenocarcinoma moderadamente diferenciado. El paciente recibió 6 ciclos de gemcitabina desde mayo hasta octubre de 2013. El escáner CT de noviembre de 2013 sugirió una respuesta parcial del tumor pancreático, pero con nuevas metástasis en el lóbulo lateral izquierdo del hígado.
- 30 Comenzó con NUC-1031 el 4 de febrero de 2014 a 1,000 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 1 ciclo a esta dosis. En este momento, el DSMC decidió reducir la dosis en todos los pacientes de esta cohorte a 900 mg/m<sup>2</sup> debido a una DLT en un paciente (paciente 039). El paciente recibió un ciclo adicional en la nueva dosis. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró enfermedad estable para RECIST con una reducción del 18.4% en el volumen tumoral.
- 35 El dolor en el abdomen y la espalda ha mejorado significativamente; el paciente estaba con oxycontin 80 mg bd y ahora había detenido toda la morfina. También tuvo una caída muy significativa en los marcadores tumorales: CA19.9 desde 15,000 al inicio del estudio a 4000 y CEA de 536 al inicio del estudio a 42. La fatiga se convirtió en un problema importante después de cada ciclo. El escáner CT del 29 de abril de 2014 mostró una reducción adicional en el volumen tumoral al 30% para lograr una respuesta parcial para RECIST. El paciente tuvo pérdida de apetito, fatiga grave y fue retirado del estudio.
- 40 Respuesta parcial para RECIST (1 mes, PFS 4 meses).
- Cáncer de ovario paciente 038: enfermedad progresiva
- Mujer (65 años)
- 45 Se diagnosticó con adenocarcinoma seroso recurrente de estadio 3c grado 3 del ovario en el 2000. Se sometió a una histerectomía abdominal total, con salpingo-ooforectomía bilateral y cirugía de reducción de la masa, dejando una enfermedad residual mínima, en noviembre de 2000. Recibió 6 ciclos de 3 semanalmente carboplatino + paclitaxel hasta marzo de 2001. Tras una recaída en 2002, recibió 6 ciclos de carboplatino más etopósido para completar la remisión en marzo de 2003. Nueva recaída en 2005 y tuvo más cirugía de reducción de la masa, seguida de carboplatino + gemcitabina x 6 ciclos que finalizaron en julio de 2006 con respuesta completa. Se requirió
- 50

- 5 cirugía de reducción de la masa adicional, incluida la esplenectomía, luego de una recaída en 2009. Esto fue seguido por 6 ciclos de carboplatino + caelyx y se logró una respuesta completa. Una recurrencia pélvica derecha cerca del vaso ilíaco externo derecho, que se consideró que era inoperable, se observó en 2010. La paciente recibió carboplatino y paclitaxel durante 6 ciclos, que completó en abril de 2011, con una respuesta parcial. En octubre de 2011, mostró evidencia de progresión, recibió topotecan durante 6 ciclos hasta marzo de 2012 y tenía una enfermedad estable. En este momento se sometió a la inserción de un stent ureteral derecho para hidronefrosis. En junio de 2012, después de la progresión adicional de la enfermedad con nuevas metástasis pulmonares bilaterales, se inició con carboplatino + paclitaxol + bevacizumab semanalmente hasta marzo de 2013 seguido de bevacizumab + letrozol de mantenimiento hasta septiembre de 2013. Esto fue seguido por 3 ciclos de ciclofosfamida + bevacizumab, pero el intervalo el escaneo mostró una enfermedad progresiva y el 11 de noviembre de 2013 se suspendió su tratamiento. El stent ureteral derecho cambió en enero de 2014.
- 10 Comenzó con NUC-1031 el 4 de marzo de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 2 ciclos. La toxicidad principal fue la fatiga de inicio tardío, que se inició los días 3 a 4. El escáner al final del ciclo 2 mostró una enfermedad progresiva con un aumento del 25% en el volumen tumoral. Se retiró del estudio.
- 15 Enfermedad progresiva.
- Colangiocarcinoma paciente 040: enfermedad estable
- Mujer (69 años)
- 20 Diagnosticada en mayo de 2013 con colangiocarcinoma intrahepático grado 2, con masa hepática de 11 cm que obstruye el conducto biliar común y causa ictericia. Se insertó un stent biliar. Recibió 7 ciclos de gemcitabina + cisplatino de agosto a diciembre.
- 25 Comenzó con NUC-1031 el 20 de febrero de 2014 a 1.000 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 1 dosis. Se presentó para el ciclo 1, Día 8 el 27 de febrero con fiebre, rigidez y bilirrubina elevada. Fue ingresada, y la fuente de infección (G3) fue un stent bloqueado con tumor y un quiste del tracto biliar. Dos nuevos stents estaban funcionando bien. El ciclo 1 se completó a 900 mg/m<sup>2</sup> debido a DLT en esa cohorte. Completó 3 ciclos. El escáner CT al final del ciclo 2 del 23 de mayo mostró una enfermedad estable para RECIST con una ligera reducción en el volumen del tumor desde 85 en la base hasta 82.1. CA 19.9 cayó de 664 al inicio del estudio a 155 el 4 de junio. Fue ingresada con delirio en junio de 2014 y se le diagnosticó una infección del tracto urinario. La investigación adicional también reveló una enfermedad progresiva en el hígado. Se retiró del estudio.
- 30 Enfermedad estable para RECIST (4 meses).
- 30 Cáncer de mama paciente 041: enfermedad estable
- Mujer (54 años)
- 35 Se diagnosticó con cáncer de mama ductal invasivo metastásico (ER y PR + ve) con ganglios axilares bilaterales, metástasis pulmonar y hepática. Recibió FEC x 3 ciclos, paclitaxel x 9 ciclos, capecitabina x 8 ciclos, euribulina x 3 ciclos y gemcitabina + carboplatino x 1 dosis. Su última dosis de quimioterapia fue el 19 de diciembre de 2013 y el último escáner CT antes de la inscripción mostró una enfermedad progresiva.
- 40 Comenzó con NUC-1031 el 18 de marzo de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 3 ciclos. Tuvo 2 retrasos en el tratamiento después del ciclo 1, día 8 y día 15, debido a la neutropenia, que se resolvió espontáneamente en una semana. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una enfermedad estable para RECIST. El marcador tumoral CA 15.3 fue 726 en la base 845 en C2 y fue 824 el 19 de mayo de 2014. (Este marcador tumoral siempre ha sido un indicador confiable de respuesta en el pasado). Experimentando fatiga (G3) durante el ciclo 3, pero logró reducir significativamente los opiáceos. La dosis de NUC-1031 se redujo a 825 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 4. El escáner al final del ciclo 4 mostró enfermedad progresiva con aumento en los sitios diana y nuevas lesiones óseas. Se retiró del estudio.
- 45 Enfermedad estable para RECIST (4 meses)
- Colangiocarcinoma paciente 042: enfermedad progresiva
- 45 Hombre (48 años)
- 50 Se le diagnosticó con colangiocarcinoma metastásico en enero de 2013. Hepatectomía parcial en febrero de 2013. Comenzó con el brazo de observación del ensayo BILCAP (comparando capecitabina con la observación después de la cirugía para cáncer de vías biliares). En la progresión comenzó con gemcitabina y cisplatino x 6 ciclos. En una progresión posterior en noviembre de 2013, comenzó con capecitabina. Sin embargo, esta se detuvo después de dos meses cuando desarrolló angina. En una progresión posterior, comenzó con 5 FU x 6 semanas, pero tenía enfermedad progresiva con metástasis en pulmón, hígado y hueso.

El último tratamiento fue en enero de 2014. Recibió radioterapia paliativa para el dolor en la metástasis ósea del hombro derecho el 20 de enero de 2014.

5 Comenzó con NUC-1031 el 18 de marzo de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 2 ciclos. Experimentó fatiga de aparición tardía (G2) en los días 3-5 después del fármaco del estudio. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una reducción del 9% en el volumen tumoral de la lesión diana primaria, pero mostró nuevas lesiones pulmonares y óseas. Se retiró del estudio. Enfermedad progresiva.

Cáncer de ovario paciente 043: enfermedad estable

Mujer (54 años)

10 Se diagnosticó con cáncer peritoneal seroso papilar en estadio 4, grado 3. Una histerectomía abdominal total, con salpingo-ooforectomía bilateral y omentectomía realizada en septiembre de 2007. Recibió carboplatino + paclitaxel x 4 ciclos seguidos de 2 ciclos de carboplatino solo, debido a neuropatía, y finalizó el curso en enero de 2008. En abril de 2011 se realizó cirugía de reducción de la masa secundaria para la masa pélvica recurrente. La paciente no deseaba recibir quimioterapia o radioterapia adyuvante. Recurrencia adicional de la enfermedad en julio de 2012 y un stent insertado para hidronefrosis. Enfermedad recurrente en agosto de 2012 e inició con carboplatino + gemcitabina. El escáner CT en marzo de 2013 reveló la progresión de la enfermedad; la paciente completó 6 x ciclos de Caelyx en octubre de 2013. Enfermedad progresiva a principios de 2014 con derrame pleural, que requirió un drenaje muy regular.

20 Comenzó con NUC-1031 el 20 de marzo de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 6 ciclos. Recibió un escáner por PET el 7 de abril de 2014, que mostró una enfermedad estable y el SUV había disminuido en algunos tumores diana. CA125 se había reducido de 1.099 al inicio del estudio a 783 al comienzo del ciclo 2. El volumen de líquido del derrame pleural también se redujo (se drenaban 300 ml semanalmente, ahora 150 ml semanalmente). Se desarrolló retraso del inicio de la fatiga (G2) los días 4 y 5 y G1 en todos los demás momentos. El escáner CT al final del ciclo 6 mostró enfermedad estable para RECIST con una reducción global del 10% en el volumen tumoral desde el inicio del estudio. CA125 cayó de 1,099 al inicio del estudio a 910 el 15 de julio. El estudio se completó y se solicitó continuación compasiva. La dosis se redujo a 750 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 7 y recibió 1 ciclo adicional. El edema de la pierna se desarrolló a G3, no hubo progresión de la enfermedad, pero se buscaron nuevas opciones de tratamiento y se retiró del estudio.

Enfermedad estable para RECIST (13 meses).

Cáncer de pulmón paciente 044: enfermedad estable

30 Mujer (64 años)

35 Se diagnosticó con adenocarcinoma de pulmón (lóbulo inferior izquierdo) febrero de 2010 después de tos no resuelta durante 7 meses. Entre enero de 2011 y abril de 2012, el paciente recibió Gefitinib 250m, pero tuvo una enfermedad progresiva. Recibió afatinib desde abril de 2012 a noviembre de 2012 (pero la reducción de la dosis debido a la toxicidad de la piel), pero de nuevo con la enfermedad progresiva. De noviembre de 2012 a junio de 2013, el paciente recibió erlotinib después de empeorar la tos y la progresión de la lesión primaria. En junio de 2013 desarrolló una visión anormal y sombras negras en el ojo izquierdo y se encontró que tenía metástasis coroideas por las cuales recibió radioterapia en ambos ojos, con mejoría de su visión. En junio de 2013, comenzó el pemetrexed + carboplatino durante 6 ciclos, seguido del mantenimiento con pemetrexed hasta el 6 de febrero de 2014, cuando se le diagnosticó la enfermedad progresiva.

40 Comenzó con NUC-1031 el 27 de marzo de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y había completado 2 ciclos. Tuvo una infección pulmonar G3 el 19 de abril que respondió bien a los antibióticos. Comenzó el ciclo 2 en una dosis reducida, 825 mg/m<sup>2</sup> y completó otros 2 ciclos. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró enfermedad estable para RECIST con una reducción del 10% en el volumen tumoral. Tuvo 2 retrasos en el tratamiento para el drenaje de ascitis y dos más para la trombocitopenia. El escáner CT al final del ciclo 4 mostró enfermedad progresiva en pulmón y nuevas metástasis hepáticas. Se retiró del estudio.

45 Enfermedad estable para RECIST (5 meses).

Carcinoma suprarrenal paciente 046: enfermedad estable

Hombre (36 años)

50 Se le diagnosticó en agosto de 2011 con un gran carcinoma adrenocortical de 20 x 19 x 9 cm. Ki 67 35-40% de conteo mitótico 25/50hpf, puntaje de Weiss 6 con tumor que se extiende a 0.3 mm de márgenes externos, pero no afectación renal. Recibió el adyuvante mitotano hasta enero de 2012 cuando se detuvo debido a náuseas y diarrea.

Volvió a comenzar con mitotano en junio de 2012. recayó en junio de 2013 con nuevas metástasis hepáticas e inicio de etopósido + carboplatino.

5 El escáner CT de estadificación en septiembre de 2013 mostró una respuesta diferencial pero una enfermedad estable en general, y recibió otros 3 ciclos y se mantuvo estable al finalizar en noviembre de 2013. En enero de 2014 mostró una enfermedad progresiva en el hígado.

10 Comenzó con NUC-1031 el 16 de abril de 2014 a 1,000 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 1 ciclo. Durante el ciclo 1 experimentó fatiga de inicio retardado, náuseas y vómitos (todos G3). La dosis se redujo a 900 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 2 y recibió 5 ciclos adicionales con esta dosis para completar el estudio. El escáner CT al final del ciclo 6 mostró una reducción del 12.6% en el volumen tumoral desde el inicio del estudio. Se solicitó la continuación compasiva y completó 3 ciclos adicionales. Se desarrolló fatiga (G3) y neutropenia (G2) después del ciclo 8 D1, se redujo la dosis a 750 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 8 y recibió 2 ciclos adicionales. Aunque mejoró para G1, la fatiga continuó, también desarrolló náuseas y vómitos y la dosis se redujo aún más a 625 mg/m<sup>2</sup> para C11. Recibió 2 dosis adicionales. Se retiró del estudio.

Enfermedad estable para RECIST (11 meses).

15 Cáncer de ovario paciente 048: enfermedad estable

Mujer (63 años)

20 Se le diagnosticó con tumor de células de la granulosa del estadio 1a del ovario en el 2000 y se le realizó una histerectomía abdominal total y una salpingo-ooforectomía + omentectomía bilateral. En la recurrencia en febrero de 2004 comenzó 3 ciclos de BEP (bleomicina + etopósido + cisplatino) a la progresión de la enfermedad. Reducción secundaria en julio de 2004.

25 En junio de 2006 se realizó hepatectomía parcial, esplenectomía y extirpación de depósitos del estómago y el peritoneo. Esto fue seguido por la ablación por radiofrecuencia en los depósitos hepáticos. Se le realizó laparotomía y resección de otros 4 depósitos metastásicos en septiembre de 2008. En marzo de 2009 se inició 3 dosis semanales de carboplatino + paclitaxel, con una respuesta mixta. Cambió a carboplatino semanal + paclitaxel a dosis baja el 12 de mayo de 2009. Se completó en octubre de 2009 con PR y CA-125 negativo. Otra cirugía de reducción de la masa en octubre de 2011, con complicaciones que requieren una estancia prolongada en la ITU. El escáner CT en abril de 2014 mostró que la lesión en el segmento 8 de hígado había aumentado de tamaño, nuevas metástasis peritoneales pequeñas en el ligamento gastrohepático y una cierta nueva linfadenopatía de pequeño volumen en el mesenterio del intestino delgado y otros pequeños depósitos peritoneales en la pelvis alrededor de la unión recto-simoidea.

30

35 Comenzó con NUC-1031 el 29 de abril de 2014 a 1,000 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 1 dosis. Después del ciclo 1 Día 1 se desarrolló; ALT, (G3, a DLT); AST y neutropenia (G2); ALP (G1). Dosis se redujo a 900 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 1 día 8. ALT volvió a G3 después de los días 8 y 15. La dosis para el ciclo 2 se redujo a 825 mg/m<sup>2</sup>. Los resultados del escáner PET al final del ciclo 1 mostraron una enfermedad estable y una reducción en SUV en los sitios diana. En enero de 2014, la inhibina B fue 430 y aumentó a 1,038 antes del ingreso al estudio. Julio de 2014 la inhibina B se estabilizó a 1,106, agosto 1148, septiembre de 1053. La dosis se redujo para el ciclo 4 día 15 a 750 mg/m<sup>2</sup> debido a la neutropenia (G3) a pesar de la intervención con G-CSF. El estudio se completó sobre esta dosis. El escáner CT al final del ciclo 6 del 11 de noviembre confirmó la enfermedad estable para RECIST. Se solicitó la continuación compasiva. Debido a la diarrea después de cada dosis, comenzó el ciclo 7 a la dosis reducida de 625 mg/m<sup>2</sup>. Se desarrolló embolia cerca de la línea Hickman, y aunque esta respondió a clexane, el paciente fue retirado del estudio.

40

Enfermedad estable para RECIST (8 meses).

Cáncer esofágico paciente 050 (202): enfermedad progresiva

Mujer (41 años)

45 Se diagnosticó con carcinoma de células escamosas en estadio 4 del esófago con metástasis hepáticas en noviembre de 2013. Recibió 6 ciclos de cisplatino + capecitabina desde diciembre de 2013 hasta abril de 2014. El escáner posterior al tratamiento mostró enfermedad progresiva y nuevos depósitos pulmonares.

50 Comenzó con NUC-1031 el 21 de mayo de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 3 ciclos. Después del ciclo 1 día 1 se desarrolló ALT y fatiga, ambos G3, y se redujo la dosis para el ciclo 1 día 8. El escáner CT al final del ciclo 2 pareció mostrar la progresión de la enfermedad, aunque la incertidumbre sobre algunas lesiones iniciales.

Como el paciente obtenía beneficios clínicos con una mejoría en su disfagia, se decidió permitir un ciclo más. El escáner CT al final del ciclo 3 confirmó la progresión de la enfermedad y se retiró al paciente del estudio.

Enfermedad progresiva.

Cáncer anal paciente 051 (203): enfermedad progresiva

Mujer (51 años)

5 Se diagnosticó con carcinoma de células escamosas metastásico del ano en octubre de 2013. Progresado después de 6 ciclos de cisplatino + 5FU desde octubre de 2013 hasta marzo de 2014.

Comenzó con NUC-1031 el 3 de junio de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 2 ciclos. Transfusión de sangre fue necesaria durante el ciclo 2, pero toleró bien el tratamiento. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una enfermedad progresiva.

Enfermedad progresiva.

10 Cáncer de esófago paciente 052 (204): enfermedad estable

Hombre (66 años)

Se le diagnosticó con cáncer de esófago en estadio IV en diciembre de 2012. Recibió FOX desde enero de 2013 hasta julio de 2013, con una respuesta parcial. Mostró la enfermedad progresiva en abril de 2014. Se insertó un stent esofágico.

15 Comenzó con NUC-1031 el 10 de junio de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 1 ciclo. Debido a la fatiga, la dosis se redujo a 825 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 2, con buen efecto. Se completaron 2 ciclos adicionales a esta dosis. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una enfermedad estable para RECIST. Sigue teniendo dolor en los huesos, pero los escáneres revelaron que esto no está relacionado con la enfermedad. La disfagia se estaba exacerbando. El escáner CT al final del ciclo 4 del 10 de noviembre reveló la progresión de la enfermedad.

20 Enfermedad estable para RECIST (5 meses).

Cáncer de colon paciente 053 (205): enfermedad progresiva

Mujer (31 años)

25 Se diagnosticó con un adenocarcinoma de colon T3 N1 M0 en 2008. Se resecó y recibió 12 ciclos de FOLFOX, que se completó en 2009. En la progresión en 2011, recibió 13 ciclos de FOLFIRI (6 de los ciclos incluido avastin). Con una mayor progresión en 2012, recibió 12 ciclos de FOLFOX (6 de los ciclos incluido avastin). Enfermedad progresiva adicional en enero de 2014, con metástasis a los pulmones y las vértebras. Recibió radioterapia en la columna vertebral.

30 Comenzó con NUC-1031 el 12 de junio de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y se completó 1 ciclo. Ha desarrollado una serie de infecciones y ha necesitado una ileostomía sin funcionamiento. Después de muchos retrasos en el tratamiento recibió el ciclo 2 día 15 y el escáner CT al final del ciclo 2 mostró enfermedad progresiva con nuevas lesiones en el pulmón y el hígado.

Enfermedad progresiva.

Cáncer de ovario paciente 055 (207): enfermedad estable

Mujer (42 años)

35 Diagnosticada en enero de 2002 con adenocarcinoma seroso papilar en estadio 2c grado 1 del ovario. Se sometió a histerectomía abdominal total, salpingo-ooforectomía bilateral y omentectomía con 6 ciclos de adyuvante carboplatino + paclitaxel, completando el tratamiento en junio de 2002.

40 En enero de 2012 desarrolló un nuevo cáncer de peritoneo primario de estadio 3c de grado 3 que implicaba la unión recto-sigmoidea. Se sometió a exenteración posterior, que comprende resección de ciego, recto y omentectomía sigmoidea y extracción peritoneal. De marzo a agosto de 2012 recibió 6 ciclos de adyuvante carboplatino + paclitaxel.

En la recurrencia de la enfermedad en enero de 2013 recibió 6 ciclos de paclitaxel semanalmente hasta mayo de 2013. Tras una mayor progresión en octubre de 2013 comenzó 3 semanalmente paclitaxel + carboplatino + inhibidor de AKT diario en el estudio AKTRES. En mayo de 2014, la CT mostró nuevas lesiones y enfermedad progresiva.

- Comenzó con NUC-1031 el 2 de julio de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 1 ciclo. La dosis se redujo a 825 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 2 debido a la fatiga y completó 4 ciclos adicionales. Se experimentaron náuseas y vómitos después de la quimioterapia, se redujo la dosis a 625 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 6 y se completó un ciclo adicional. El escáner CT al final del ciclo 6 del 16 de diciembre de 2014 mostró una enfermedad estable continuada para RECIST con una reducción en el volumen tumoral del 18% desde el inicio del estudio. Los pacientes con CA 125 fueron 36 al inicio y 24 en enero de 2015. Completó el estudio y se solicitó la continuación compasiva. Recibió 2 ciclos adicionales bajo el programa de acceso compasivo sin más problemas. La paciente eligió abandonar el estudio porque viajaba a gran distancia y solicitó el descanso.
- 5 Enfermedad estable para RECIST (más de 10 meses).
- 10 Cáncer de ovario paciente 057 (209): enfermedad estable
- Mujer (58 años)
- Se diagnosticó con cáncer de ovario seroso en estadio 3c grado 3 en octubre de 2011. Recibió 3 ciclos de neoadyuvante carboplatino + taxol, pero desarrolló alergia a taxol en el ciclo 3. Se sometió a exenteración posterior, reducción de masa ovárica, resección anterior con una anastomosis primaria, y omentectomía el 21 de diciembre de 2011. Completó 3 ciclos de carboplatino + docetaxel en marzo de 2012. Recayó en junio de 2013 y recibió 6 ciclos de carboplatino + caelyx hasta noviembre de 2013. En febrero de 2014 tuvo evidencia por CT de recurrencia de la enfermedad y recibió 3 ciclos de carboplatino + gemcitabina de marzo a junio de 2014.
- 15 Comenzó con NUC-1031 el 9 de julio de 2014 a 900 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 2 dosis. Se presentó para el ciclo 1 día 15 el 30 de julio con anemia y ascitis ambos G3.
- 20 La dosis se redujo a 825 para el ciclo 2 y recibió 2 ciclos adicionales. El escáner CT al final del ciclo 4 mostró una enfermedad estable continuada para RECIST con una reducción en el volumen tumoral del 10% desde el inicio del estudio.
- Tiene un drenaje pleurx en y aproximadamente 1,000 ml de fluido muy sanguinolento se retiran cada dos semanas. La reducción adicional de la dosis a 750 mg/m<sup>2</sup> del ciclo 4 día 1 debido a la fatiga, recibió un ciclo adicional.
- 25 Aumento del fluido abdominal, Se retiró del estudio debido a la progresión clínica.
- Enfermedad estable para RECIST (5 meses)
- Cáncer de pulmón paciente 058 (210): enfermedad estable
- Hombre (54 años)
- Se le diagnosticó con adenocarcinoma metastásico de pulmón de célula no pequeña, con ganglios linfáticos y metástasis óseas en enero de 2014.
- 30 Comenzó 3 ciclos de cisplatino y pemetrexed con una respuesta de enfermedad estable. Marzo de 2014 comenzó mantenimiento pemetrexed, recibió 4 ciclos hasta abril de 2014. En mayo de 2014 mostró enfermedad progresiva con metástasis pulmonares bilaterales y recibió 1 dosis más de pemetrexed.
- 35 Comenzó con NUC-1031 el 14 de julio de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 1 ciclo. El ciclo 1 día 15 se retrasó una semana debido a la transaminitis G3 (ALT), una DLT, y la dosis se redujo a 750 mg/m<sup>2</sup>. Sin embargo, parte de la elevación de las enzimas hepáticas puede deberse a una afección hepática congénita. Recibió 1 ciclo adicional a 750 mg/m<sup>2</sup>. El escáner CT al final del ciclo 4 mostró enfermedad progresiva con nuevas lesiones en los huesos.
- Enfermedad estable para RECIST (4 meses)
- 40 Cáncer de cuello uterino paciente 059 (211): enfermedad estable
- Mujer (52 años)
- Se diagnosticó con carcinoma de células escamosas en estadio IV del cuello uterino en diciembre de 2012. Comenzó con carboplatino + quimioterapia con taxol, que se detuvo debido a la toxicidad, especialmente del taxol (erupción y picazón), en febrero de 2013. Comenzó 6 ciclos de cisplatino + topotecan desde marzo de 2013 hasta julio de 2013 y logró la enfermedad estable. El escáner CT en octubre de 2013 mostró la progresión de la enfermedad. Recibió 30 Gy en 10 fracciones de radioterapia pélvica, que se completó en noviembre de 2013. Comenzó con gemcitabina + carboplatino en diciembre de 2013 y recibió 3 ciclos. Sin embargo, un escáner CT de intervalo en febrero de 2014 mostró la progresión de la enfermedad.
- 45

- Comenzó con NUC-1031 el 24 de julio de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanal y completó 1 ciclo. Ciclo 1 día 15 se retrasó durante 1 semana debido a trombocitopenia (G3). La dosis se redujo a 750 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 2 y completó 2 ciclos adicionales. El escáner CT al final del ciclo 4 mostró enfermedad estable continua para RECIST. La dosis se redujo a 625 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 4 debido a la fatiga (G3) experimentada durante el ciclo 3 con buen efecto. Se completaron 2 ciclos adicionales a esta dosis. Los stents urinarios hicieron que el paciente se sintiera muy incómodo y lo reemplazaron en enero de 2015. Durante el ciclo 6, el paciente informó que estaba muy cansado y decidió abandonar el estudio.
- 5 Enfermedad estable para RECIST (7 meses).
- Cáncer de páncreas paciente 060 (212): enfermedad progresiva
- 10 Hombre (83 años)
- Se le diagnosticó con cáncer de páncreas metastásico (adenocarcinoma moderadamente diferenciado) con metástasis hepáticas múltiples, en enero de 2014. Elegido para recibir quimioterapia paliativa en el estudio Maestro (gemcitabina los días 1, 8 y 15 e hipoxia activada TH302) de enero a junio 2014 pero tuvo enfermedad progresiva.
- 15 Comenzó con NUC-1031 el 5 de agosto de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y completó 1 ciclo. Se presentó el 10 de septiembre con ALP, AST, ALT, todos G3. Se necesitó un nuevo stent. Después de los retrasos en el tratamiento, se completó el ciclo 2 el 1 de octubre. El escáner CT mostró la enfermedad progresiva con nuevas lesiones hepáticas.
- Enfermedad progresiva.
- Cáncer colorrectal paciente 061 (213): enfermedad estable
- 20 Mujer (53 años)
- Se diagnosticó con cáncer de colon en 2012. Cirugía, que implica salpingo-ooforectomía bilateral, omentectomía y una ileostomía en asa. Comenzó 12 ciclos de FOLFOX de enero a julio de 2013. Tras la recurrencia de la enfermedad en abril de 2014, recibió 8 ciclos de FOLFIRI y cetuximab de abril a julio de 2014. Tenía náuseas y vómitos intensos en todas las quimioterapias.
- 25 Comenzó con NUC-1031 el 11 de agosto de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanal y completó 4 ciclos. No tuvo náuseas ni vómitos durante el tratamiento. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró enfermedad estable para RECIST con una reducción del 2% en el volumen tumoral. El escáner CT al final del ciclo 4 mostró enfermedad progresiva con nuevas lesiones en el bazo y el hígado.
- Enfermedad estable para RECIST (3 meses).
- 30 Cáncer de ovario paciente 063 (215): enfermedad estable
- Mujer (78 años)
- En mayo de 2011 se le diagnosticó un melanoma vulvar concurrente (nivel 4 de Clark) y un cáncer de ovario en estadio 3b. Se iniciaron 3 ciclos de carboplatino + paclitaxel de agosto a septiembre de 2011, seguidos de una cirugía de reducción de la masa de intervalo, que comprendía histerectomía abdominal total, salpingo-ooforectomía bilateral y omentectomía. Luego recibió otros 3 ciclos de carboplatino + paclitaxel, completando el tratamiento en noviembre de 2011. En la progresión de la enfermedad, comenzaron 6 ciclos de gemcitabina + carboplatino + avastin de septiembre de 2013 a febrero de 2014. Luego recibió 2 ciclos de caelix de abril a junio de 2014.
- 35 Comenzó con NUC-1031 el 27 de agosto de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 1 ciclo. La dosis se redujo a 750 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 2 día 15 debido a anemia y neutropenia y recibió 2 ciclos adicionales. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una enfermedad estable para RECIST. La dosis se redujo a 625 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 4 del día 1 debido a la fatiga (G3), experimentada en el ciclo 3. Se desarrolló disnea persistente. Se retiró del estudio.
- 40 Enfermedad estable para RECIST (3 meses).
- Cáncer trofoblástico paciente 064 (216): enfermedad progresiva
- Mujer (38 años)
- 45 En junio de 2011 se le diagnosticó un tumor trofoblástico epitelioide y sitio placentario mixto en estadio 3 recurrente (PSTT/ETT). Tras la histerectomía radical y el muestreo de ganglios linfáticos recibió quimioterapia adyuvante con

paclitaxel + cisplatino en última instancia con paclitaxel + etopósido de junio a octubre de 2011, seguida de cirugía por filtración linfática en noviembre de 2011 y una implantación ureteral bilateral en febrero de 2012.

5 En febrero de 2013 se sometió a una ooforectomía izquierda y resección de serosa vesical por enfermedad recurrente y se le administró quimioterapia adyuvante de dosis altas de etopósido de marzo a julio de 2013, seguido de un trasplante autólogo de células madre. Enero de 2014 se sometió a exenteración posterior, que comprende la resección de la parte superior de la vagina, el recto y la vejiga, la extirpación del ovario izquierdo, la vagina anterior, un nódulo mesentérico y el uréter derecho. Recibió 5 ciclos de pemetrexed + carboplatino de febrero a mayo de 2014. Esto se cambió a gemcitabina + carboplatino, debido al aumento de los niveles de HCG. Recibió 2 ciclos, pero la CT de intervalo mostró una lesión pulmonar del lóbulo inferior izquierdo que se consideró inoperable.

10 Comenzó con NUC-1031 el 3 de septiembre de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 2 ciclos. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró enfermedad progresiva, crecimiento de lesiones existentes en pulmones y peritoneo.

Enfermedad progresiva.

Cáncer colorrectal paciente 066 (218): enfermedad estable

Hombre (65 años)

15 En mayo de 2011, se le diagnosticó por primera vez el adenocarcinoma moderadamente diferenciado de pT4b pN0 del colon sigmoide. Se sometió a una resección anterior en noviembre de 2011 y comenzó la quimioterapia FOLFOX en enero de 2012. Desarrolló neuropatía periférica después de 3 ciclos y se cambió a 5FU en monoterapia. También estaba preocupado con los retrasos debido a la diarrea y el malestar general. Después de 3 meses con 5FU mostró una respuesta estable de marcador, pero con una respuesta mixta en el escáner CT en julio de 2012. Se mantuvieron estables en el tratamiento hasta mayo de 2013, lo que mostró un progreso en el escáner CT con los niveles de marcadores tumorales duplicados. Volvió a comenzar con 5FU + avastin, que se completó en octubre de 2013. El tratamiento fue complicado con numerosos ingresos hospitalarios con infecciones de pecho y dolor en el pecho. Recibió 8 ciclos de cetuximab de marzo a julio de 2014. El escáner CT mostró la progresión de la enfermedad y cambió a 5FU más avastin. En junio de 2014 se realizó una laparotomía y una adhesiolisis debido a adherencias de depósitos metastásicos dentro de su peritoneo. Recibió un ciclo adicional de avastin, pero, se suspendió con un aumento de CEA. Tiene muchas comorbilidades, EPOC, cardiopatía isquémica e insuficiencia cardíaca congestiva.

20

25

30 Comenzó con NUC-1031 el 16 de septiembre de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 2 ciclos. Reducción de la dosis a 750 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 3 debido a la fatiga y recibió 1 ciclo adicional. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró una enfermedad estable para RECIST.

Tuvo dos admisiones recientes por complicaciones de una hernia, lo que ocasionó retrasos en el tratamiento. El escáner CT no programado el 30 de diciembre mostró una enfermedad estable continua con una reducción en el volumen tumoral del 16% desde el inicio del estudio. La dosis se redujo aún más a 625 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 4 debido a la fatiga. Ha recibido 1 ciclo adicional a esta dosis sin problemas adicionales.

35 Admitido durante el ciclo 5 con dolor de espalda agudo, se observó una fractura antigua (no relacionada con el estudio). Continúa bajo evaluación quirúrgica. Se retiró del estudio debido a retrasos en el tratamiento.

Enfermedad estable para RECIST (más de 8 meses).

Osteosarcoma paciente 067 (219): enfermedad estable

Hombre (38 años)

40 En mayo de 2011 se diagnosticó el 24 de febrero de 2012 con osteosarcoma de tibia proximal derecha. Recibió 6 ciclos de cisplatino + doxorubicina + metotrexato de febrero a noviembre de 2012. Tuvo un reemplazo tibial proximal en noviembre de 2012 y recibió mifamurtida después de la quimioterapia durante 6 meses. El escáner CT en agosto de 2014 mostró recurrencia metastásica con nueva lesión intrapulmonar y pericárdica, inferior a la IVC y adyacente a la aurícula derecha.

45 Comenzó con NUC-1031 el 30 de septiembre de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanal y recibió 5 ciclos. El escáner CT al final del ciclo 4 mostró una enfermedad estable para RECIST. Tiende a desarrollar neutropenia G2 hacia el final de cada ciclo, pero el conteo se recupera rápidamente. El estudio terminó el 3 de marzo de 2015. El fármaco tolerado del estudio también. El escáner CT EOS mostró que la enfermedad estable para RECIST con un aumento del 1% desde el inicio del estudio. El escáner también mostró una calcificación significativa en el tumor. El paciente solicitó la continuación compasiva del fármaco del estudio y completará C7 el 2 de abril de 2015 a la dosis reducida de 750 mg/m<sup>2</sup>. Evaluado por el cirujano torácico que operará en el pulmón izquierdo para extirpar la lesión diana en el lóbulo inferior el 26 de abril de 2015. Los cirujanos torácicos extirparon la lesión calcificada del lóbulo inferior el 26 de abril

50

de 2015. La lesión se eliminó completamente con un aclaramiento margen del tejido circundante normal. El paciente se ha recuperado bien de la operación.

Enfermedad estable para RECIST (7+ meses).

Cáncer de pulmón paciente 068 (220)

5 Hombre (60 años)

En mayo de 2011 se le diagnosticó carcinoma de células no pequeñas T3 N3 M1b del pulmón derecho (adenocarcinoma), EGFR de tipo salvaje, en febrero de 2013. Recibió 10 ciclos de pemetrexed y cisplatino de febrero a diciembre de 2013, seguido de radioterapia paliativa torácica. De enero a mayo de 2014 se inscribió en el estudio POPLAR en el brazo de docetaxel.

10 Comenzó con NUC-1031 el 3 de octubre de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 2 ciclos. El escáner CT al final del ciclo 2 mostró enfermedad progresiva. Se retiró del estudio.

Enfermedad progresiva.

Cáncer Colorrectal paciente 069 (221)

Mujer (45 años)

15 En mayo de 2011 se le diagnosticó cáncer colorrectal. En agosto de 2011 recibió capecitabina neoadyuvante con radioterapia y luego cirugía primaria de reducción de la masa en diciembre de 2011. Recibió FOLFOX adyuvante desde enero hasta julio de 2012. En abril de 2013 desarrolló una recurrencia pulmonar solitaria, que fue reseada. En julio de 2013, se encontró y se eliminó una recurrencia parietooccipital derecha, junto con algunos depósitos de cáncer dérmico y subcutáneo. Comenzó con cetuximab con FOLFIRI desde septiembre de 2013 y se mantuvo en mantenimiento con cetuximab hasta septiembre de 2014. El tratamiento con cuchillo gamma en septiembre de 2014 para la metástasis cerebral. Es asintomático para síntomas neurológicos.

20

Comenzó con NUC-1031 el 9 de octubre de 2014 a 825 mg/m<sup>2</sup> semanalmente y recibió 3 ciclos. El escáner PET en 30/10 mostró una respuesta parcial. Durante el examen pre C2, las metástasis cutáneas y subcutáneas se redujeron en gran medida o casi desaparecieron y no aparecieron otras nuevas. El escáner CT al final de C2 mostró la enfermedad estable para RECIST con una reducción del 11% en el volumen tumoral desde el inicio del estudio. Desarrolló neutropenia (G4) y leucopenia (G3) durante el ciclo 3 y se redujo la dosis a 750 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 4. El escáner CT al final de C4 mostró enfermedad estable para RECIST con una reducción del 26% en el volumen tumoral desde el inicio del estudio. Después del ciclo 4 D1 desarrolló neutropenia y leucopenia, G3 y se redujo la dosis a 675 mg/m<sup>2</sup> para el ciclo 4 D8. La dosis se redujo a 625 mg/m<sup>2</sup> para C5 D8 debido a neutropenia y leucopenia, G2. Al experimentar alteraciones visuales, el escáner CT mostró que la lesión en el cerebro había aumentado. Este ha sido eliminado con Cyberknife. Volverá a tomar el fármaco de estudio, C7 D1 el 29 de abril de 2015 a la dosis reducida de 500 mg/m<sup>2</sup>.

25

30

Enfermedad estable para RECIST (7+ meses)

**REIVINDICACIONES**

1. NUC-1031 (gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil])-fosfato) para su uso en el direccionamiento de células madre cancerosas en el tratamiento del cáncer.
- 5 2. NUC-1031 para su uso según la reivindicación 1 en el tratamiento del cáncer recurrente o refractario en un paciente humano.
3. NUC-1031 para su uso según la reivindicación 2 en el tratamiento de cáncer recurrente en un paciente humano.
4. NUC-1031 para su uso según cualquier reivindicación precedente, en el que el direccionamiento de células madre cancerosas causa su muerte.
- 10 5. NUC-1031 para uso en el tratamiento del cáncer según cualquier reivindicación precedente al reducir o prevenir el desarrollo de cáncer.
6. NUC-1031 para uso en el tratamiento del cáncer según cualquier reivindicación precedente al reducir o prevenir la progresión del cáncer.
7. NUC-1031 para su uso en el tratamiento del cáncer según cualquier reivindicación precedente al reducir o prevenir la recurrencia del cáncer.
- 15 8. NUC-1031 para uso en el tratamiento del cáncer según cualquier reivindicación precedente al reducir o prevenir la diseminación del cáncer.
9. NUC-1031 para su uso según cualquier reivindicación precedente para el tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en: leucemia, linfoma, mieloma múltiple, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, neuroblastoma, carcinoma de tiroides, cáncer de piel (incluido melanoma), carcinoma de células escamosas oral, cáncer de vejiga, tumor de células de Leydig, cáncer biliar, como colangiocarcinoma o cáncer de vías biliares, cáncer de páncreas, cáncer de colon, cáncer colorrectal, osteosarcoma y cánceres ginecológicos, incluido cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de trompas de Falopio, cáncer de útero y cáncer de cuello uterino.
- 20 10. NUC-1031 para uso según la reivindicación 9, en el que la leucemia se selecciona del grupo que consiste en leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (también conocida como leucemia mieloide aguda o leucemia no linfocítica aguda), leucemia promielocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica (también conocida como leucemia mieloide crónica, leucemia mielocítica crónica o leucemia granulocítica crónica), leucemia linfocítica crónica, leucemia monoblástica y leucemia de células pilosas, en particular leucemia linfoblástica aguda.
- 25 11. NUC-1031 para su uso según la reivindicación 9, en el que el linfoma se selecciona del grupo que consiste en: linfoma de Hodgkin; linfoma de no Hodgkin; linfoma de Burkitt; y linfoma linfocítico pequeño.
12. NUC-1031 para su uso según cualquier reivindicación precedente a una dosis semanal de entre 250 mg/m<sup>2</sup> y 1000 mg/m<sup>2</sup>.
13. NUC-1031 para su uso según la reivindicación 12 a una dosis semanal de entre 375 mg/m<sup>2</sup> y 900 mg/m<sup>2</sup>.
- 30 14. NUC-1031 para su uso según la reivindicación 13 a una dosis semanal de entre 500 mg/m<sup>2</sup> y 825 mg/m<sup>2</sup>.
15. Un procedimiento de determinación de si un paciente con cáncer o un estado precanceroso se beneficiará de la prevención o tratamiento del cáncer con NUC-1031, el procedimiento comprende: analizar una muestra biológica representativa de cáncer o un estado precanceroso en el paciente para determinar la presencia de CSC; en el que la presencia de CSC en la muestra biológica indica que el paciente se beneficiará del tratamiento con NUC-1031.