

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 744 790**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/7088** (2006.01)

**A61K 31/7125** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61P 35/02** (2006.01)

**A61P 7/00** (2006.01)

**A61P 7/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.11.2013 PCT/US2013/070437**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.06.2014 WO14088785**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2013 E 13861008 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2019 EP 2928477**

54 Título: **Uso del inhibidor de la telomerasa imetelstat para el tratamiento de la mielofibrosis**

30 Prioridad:

**07.12.2012 US 201261734941 P**

**15.03.2013 US 201361799069 P**

**15.03.2013 US 201313841711**

**05.11.2013 US 201361900347 P**

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

**26.02.2020**

73 Titular/es:

**GERON CORPORATION (100.0%)**

**149 Commonwealth Drive**

**Menlo Park, CA 94025, US**

72 Inventor/es:

**STUART, MONIC, J. y**

**KELSEY, STEPHEN**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 744 790 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

Uso del inhibidor de la telomerasa imetelstat para el tratamiento de la mielofibrosis

## 5 CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a compuestos inhibidores de la telomerasa para tratar o prevenir los síntomas asociados con la mielofibrosis.

## 10 ANTECEDENTES

Los tumores malignos hematológicos son formas de cáncer que comienzan en las células del tejido formador de sangre, como la médula ósea, o en las células del sistema inmunitario. Ejemplos de cáncer hematológico son leucemias agudas y crónicas, linfomas, mieloma múltiple y síndromes mielodisplásicos.

15 Las neoplasias mieloproliferativas, o MPN, son neoplasias hematológicas que surgen de células progenitoras mieloides hematopoyéticas neoplásicas en la médula ósea, como las células precursoras de glóbulos rojos, plaquetas y granulocitos. La proliferación de células progenitoras neoplásicas conduce a una sobreproducción de cualquier combinación de glóbulos blancos, glóbulos rojos y/o plaquetas, según la enfermedad. Estas células sobreproducidas también pueden ser anormales, lo que lleva a complicaciones clínicas adicionales. Existen varios tipos de trastornos mieloproliferativos crónicos. Se incluyen en el espectro de la enfermedad MPN la trombocitemia esencial (TE), la policitemia vera (PV), la leucemia mielógena crónica (LMC), la mielofibrosis (MF), la leucemia neutrofilica crónica, la leucemia eosinofílica crónica y la leucemia mielógena aguda (LMA). Un síndrome mielodisplásico (SMD) es un grupo de síntomas que incluye cáncer de la sangre y la médula ósea. Los síndromes mielodisplásicos (SMD) incluyen enfermedades tales como anemia refractaria, anemia refractaria con exceso de blastos, citopenia refractaria con displasia multilineaje, citopenia refractaria con displasia unilineaje y leucemia mielomonocítica crónica (LMMC).

*Trombocitemia esencial*

30 Las plaquetas circulantes de sangre son anucleadas, aunque retienen pequeñas cantidades de ARNm derivadas de megacariocitos y una capacidad biosintética de proteínas completamente funcionales (Gnatenko et al., Blood 101, 2285-2293 (2003)). La trombocitemia esencial (TE) es un subtipo de trastorno mieloproliferativo, caracterizado por una mayor proliferación neoplásica de megacariocitos, un elevado número de plaquetas circulantes y acontecimientos trombohemorrágicos considerables, no infrecuentemente neurológicos (Nimer, Blood 93, 415-416 (1999)). La TE se observa con la misma frecuencia en hombres y mujeres, aunque un pico de incidencia femenina adicional a los 30 años puede explicar la aparente mayor prevalencia de la enfermedad en las mujeres después de esta edad. La base molecular de TE aún no se ha establecido, aunque históricamente se ha considerado un trastorno "clónico" (El-Kassar et al., Blood 89, 128 (1997); "Evidence that ET is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell" PJ Fialkow, Blood 1981 58: 916-919). Aparte del volumen exagerado de plaquetas evidente en subconjuntos de plaquetas TE, las células siguen siendo morfológicamente indistinguibles de sus contrapartes normales. Actualmente no hay una prueba funcional o diagnóstica disponible para la TE y se sigue diagnosticando excluyendo otros posibles trastornos hematológicos. Las estimaciones de incidencia de 2-3 casos por cada 100.000 al año son homogéneas con otros tipos de leucemia, pero las tasas de prevalencia son al menos diez veces mayores debido a las bajas tasas de mortalidad asociadas con la TE.

45 Las terapias actuales para la TE se centran principalmente en la prevención de acontecimiento tromboticos/hemorrágicos e implican una reducción no específica de los niveles de plaquetas en la sangre. Sin embargo, ninguna de estas terapias existentes se centra específicamente en las células progenitoras neoplásicas que impulsan la neoplasia maligna responsable del estado de la enfermedad. Por ejemplo, el tratamiento de la TE con quimioterapia citotóxica elimina las células neoplásicas mientras deja las células progenitoras residuales en su lugar. Esto da como resultado nuevas células neoplásicas que surgen de las células progenitoras y la continuación del estado de la enfermedad. Además, muchas personas con TE desarrollan resistencia a los tratamientos de primera línea como la hidroxiurea o suspenden el uso de estos medicamentos por completo debido a los efectos secundarios adversos.

55 *Policitemia vera*

Los pacientes con policitemia vera (PV) tienen un marcado aumento de la producción de glóbulos rojos. El tratamiento está dirigido a reducir el número excesivo de glóbulos rojos. La PV puede desarrollar una fase tardía en su curso que se asemeja a la mielofibrosis primaria con citopenias e hipoplasia y fibrosis de la médula. La mutación del gen Janus Kinase 2 (JAK2) en el cromosoma 9 que causa una mayor proliferación y supervivencia de los precursores hematopoyéticos *in vitro* se ha identificado en la mayoría de los pacientes con PV. Los pacientes con PV tienen un mayor riesgo de acontecimientos cardiovasculares y tromboticos y de transformación a leucemia mielógena aguda o mielofibrosis primaria. El tratamiento contra la PV incluye flebotomía crónica intermitente para mantener el hematocrito por debajo del 45 % en hombres y 40 % en mujeres. Otros posibles tratamientos incluyen la hidroxiurea, el interferón alfa y la aspirina en dosis bajas.

*Mielofibrosis*

La mielofibrosis o MF, o mielofibrosis primaria es una neoplasia mieloproliferativa en el mismo espectro de enfermedades que la TE. Los pacientes con MF a menudo portan la mutación JAK2 V617F en su médula ósea. Ocasionalmente, la TE evoluciona a MF. La inhibición de JAK2 se considera actualmente un tratamiento de referencia para la MF en países donde se aprueba el ruxolitinib (Jakafi®), un inhibidor de la janus quinasa. No hay evidencia de que los inhibidores de JAK2, como Jakafi®, inhiban selectivamente la proliferación del clon leucémico responsable de la enfermedad y, por lo tanto, no pueden "modificar la enfermedad".

*Leucemia mielógena aguda*

La leucemia mielógena aguda (LMA) es un cáncer de la línea mieloide de las células sanguíneas. La LMA es la leucemia aguda más común que afecta a los adultos. Los pacientes con LMA tienen un rápido crecimiento de glóbulos blancos anormales que se acumulan en la médula ósea e interfieren con la producción de células sanguíneas normales. El reemplazo de la médula ósea normal con células leucémicas provoca una caída en los glóbulos rojos, las plaquetas y los glóbulos blancos normales. Los síntomas de la LMA incluyen cansancio, dificultad para respirar, hematomas y sangrado fáciles y un mayor riesgo de infección. Como una leucemia aguda, la LMA progresa rápidamente y generalmente es mortal en semanas o meses si no se trata. El tratamiento de referencia para la LMA es el tratamiento con quimioterapia destinado a inducir una remisión; los pacientes pueden recibir un trasplante de células madre hematopoyéticas.

*Síndrome mielodisplásico*

Un síndrome mielodisplásico (SMD) es un grupo de síntomas que incluye cáncer de la sangre y la médula ósea. Los síndromes mielodisplásicos (SMD) incluyen enfermedades tales como anemia refractaria, anemia refractaria con exceso de blastos, citopenia refractaria con displasia multilineal, citopenia refractaria con displasia unilineal y leucemia mielomonocítica crónica (LMMC). Las células madre sanguíneas inmaduras (blastos) no se convierten en glóbulos rojos, glóbulos blancos o plaquetas sanas. El blasto muere en la médula ósea o poco después de viajar a la sangre. Esto deja menos espacio para que se formen glóbulos blancos, glóbulos rojos y/o plaquetas sanas en la médula ósea.

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son una colección de afecciones médicas hematológicas que implican la producción ineficaz de la clase mieloide de células sanguíneas. Los pacientes con SMD a menudo desarrollan anemia severa y requieren transfusiones de sangre frecuentes. El sangrado y el riesgo de infecciones también ocurren debido a plaquetas y neutrófilos disfuncionales o bajos, respectivamente. En algunos casos, la enfermedad empeora y el paciente desarrolla citopenias (recuentos sanguíneos bajos) causadas por insuficiencia progresiva de la médula ósea. En algunos casos, la enfermedad se transforma en leucemia mielógena aguda (AML). Si el porcentaje general de mieloblastos de médula ósea aumenta en un límite particular (20 % para la OMS y 30 % para la FAB), entonces se dice que se produce la transformación a leucemia mielógena aguda (LMA).

El documento WO 2008/011174 describe un procedimiento para tratar trastornos mieloproliferativos, síndromes mielodisplásicos y otras enfermedades en las que la activación de JAK2 contribuye a la patología en la que el procedimiento comprende la administración de un derivado del pirrolocarbazol fusionado en el que el derivado del pirrolocarbazol fusionado inhibe la actividad de JAK2.

Lo que se necesita, por lo tanto, son nuevos tratamientos para los trastornos proliferativos mielodisplásicos o neoplasias como TE, PV, MF, LMC y LMA, y para el síndrome mielodisplásico que se dirijan a las células progenitoras neoplásicas responsables del fenotipo maligno de la enfermedad, particularmente en individuos resistentes o que presenten acontecimientos adversos como resultado de someterse a terapias de primera línea habitualmente recetadas contra este trastorno.

**RESUMEN DE LA INVENCIÓN**

De acuerdo con la invención, se proporciona un inhibidor de la telomerasa, a saber, imetelstat o sus sales farmacéuticamente aceptables, para su uso en el alivio de al menos un síntoma resultante de mielofibrosis (MF) en un individuo, en el que el inhibidor de la telomerasa es imetelstat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El al menos un síntoma aliviado puede incluir agrandamiento del bazo y dolor esplénico, saciedad temprana, anemia, dolor óseo, cansancio, fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso, debilidad, desmayos, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de la boca o las encías, heces con sangre o accidente cerebrovascular. Alternativamente, el al menos un síntoma aliviado comprende dolor óseo, fatiga, fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso, debilidad, desmayos, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de la boca o las encías, melena o accidente cerebrovascular.

En la invención, el inhibidor puede reducir la proliferación de células progenitoras neoplásicas en un individuo diagnosticado o con sospecha de mielofibrosis (MF). El inhibidor puede reducir la fibrosis de la médula ósea en un individuo diagnosticado o con sospecha de mielofibrosis (MF), o el inhibidor puede reducir la anemia.

El inhibidor puede proporcionar independencia a la transfusión de glóbulos rojos en un individuo diagnosticado o con

sospecha de mielofibrosis (MF) y que requirió al menos 2 unidades de transfusiones de glóbulos rojos en el último mes para un nivel de hemoglobina de menos de 85 g/l no asociado con sangrado clínicamente manifiesto.

5 El síntoma aliviado puede ser la esplenomegalia palpable de un bazo de al menos 10 cm al inicio del estudio en un individuo diagnosticado o con sospecha de mielofibrosis (MF), en el que la esplenomegalia palpable del bazo se reduce en un 50 % o más.

10 El síntoma aliviado puede ser la esplenomegalia palpable de un bazo que es palpable a más de 5 cm al inicio del estudio en un individuo diagnosticado o con sospecha de mielofibrosis (MF), en el que el bazo se vuelve no palpable.

De acuerdo con la invención, el individuo lleva adecuadamente una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2) y el uso del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo.

15 El individuo puede ser resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidor de telomerasa. Adecuadamente, el inhibidor de la telomerasa es para la administración con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 El inhibidor de la telomerasa puede ser para administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, inhalación o intraocular. En la invención, una o más células progenitoras neoplásicas pueden entrar en contacto con el inhibidor de la telomerasa.

25 La cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa puede ser de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. Alternativamente, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa puede ser de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg o la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa puede ser de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg.

Adecuadamente, el inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. Adecuadamente, el inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina.

30 El inhibidor de la telomerasa puede inhibir UFC-mega, opcionalmente en donde la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción en la carga alélica de JAK2.

El inhibidor de la telomerasa puede ser imetelstat sódico, opcionalmente en donde la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa puede ser de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg, o de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg, o de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg.

35 La divulgación en el presente documento describe, entre otros, procedimientos para usar compuestos inhibidores de la telomerasa para tratar y aliviar los síntomas asociados con neoplasias mieloproliferativas tales como trombocitemia esencial (TE), policitemia vera (PV), mielofibrosis (MF) y leucemia mielógena aguda (LMA) al seleccionar como diana a las células progenitoras neoplásicas características de estas enfermedades. La divulgación en el presente documento también describe, entre otros, procedimientos para usar compuestos inhibidores de la telomerasa para  
40 tratar y aliviar los síntomas asociados con los síndromes mielodisplásicos (SMD) tales como, por ejemplo, anemia refractaria, anemia refractaria con blastos excesivos, citopenia refractaria con displasia multilineaje, citopenia refractaria con displasia unilineaje y leucemia mielomonocítica crónica al seleccionar como diana a las células progenitoras neoplásicas responsables de producir el número anormalmente alto de células características de estas enfermedades.

45 De acuerdo con esto, se describen en el presente documento procedimientos para aliviar al menos un síntoma asociado con neoplasias mieloproliferativas en un individuo que lo necesita, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de telomerasa alivia al menos un síntoma asociado con neoplasias mieloproliferativas. En algunos casos, el síntoma comprende dolor de cabeza, mareos o aturdimiento, dolor en el pecho, debilidad, desmayos, cambios en la visión,  
50 entumecimiento u hormigueo en las extremidades, enrojecimiento, dolor punzante o ardiente en las extremidades (eritromelalgia), esplenomegalia, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de boca o encías, melena o accidente cerebrovascular. En algunos casos, las neoplasias mieloproliferativas son, por ejemplo, trombocitemia esencial (TE), policitemia vera (PV), mielofibrosis (MF) y leucemia mielógena aguda (LMA). En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al componente de ARN de la telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En algunos casos de cualquiera de los casos en la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico es un resto palmitoílo (C16). En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los  
65

casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el individuo lleva una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En algunos casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción de la carga alélica de JAK2. En algunos casos, el individuo es resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa. En algunos casos, el individuo es un humano.

De acuerdo con esto, se describen en el presente documento procedimientos para aliviar al menos un síntoma asociado con trombocitemia esencial en un individuo que lo necesita, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de telomerasa alivia al menos un síntoma asociado con trombocitemia esencial. En algunos casos, el síntoma comprende dolor de cabeza, mareos o aturdimiento, dolor en el pecho, debilidad, desmayos, cambios en la visión, entumecimiento u hormigueo en las extremidades, enrojecimiento, dolor punzante o ardiente en las extremidades (eritromelalgia), esplenomegalia, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de boca o encías, melena o accidente cerebrovascular. En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al componente de ARN de la telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de bases. En algunos casos de la realización, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En algunos casos de cualquiera de los casos en la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico es un resto palmitoilo (C16). En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el individuo lleva una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En algunos casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción de la carga alélica de JAK2. En algunos casos, el individuo es resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa. En algunos casos, la terapia previa sin inhibidor de telomerasa es hidroxiurea, anagrelida o interferón a-2B. En algunos casos, el individuo es un humano.

También se describen en el presente documento procedimientos para reducir la proliferación de células progenitoras neoplásicas en un individuo diagnosticado o con sospecha de neoplasias mieloproliferativas o síndrome mielodisplásico, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de la telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de la telomerasa reduce la proliferación de células progenitoras neoplásicas en el individuo. En algunos casos, las neoplasias mieloproliferativas son, por ejemplo,

trombocitemia esencial (TE), policitemia vera (PV), mielofibrosis (MF) y leucemia mielógena aguda (LMA). En algunos casos, para la TE, la proliferación de células progenitoras neoplásicas resulta en recuentos de plaquetas de menos de aproximadamente  $600 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre del individuo. En algunos casos, la proliferación de células progenitoras neoplásicas resulta en recuentos de plaquetas de menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre del individuo.

5 En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el individuo no experimenta un acontecimiento tromboembólico. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la proliferación celular neoplásica reducida que resulta en recuentos de plaquetas de menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre del individuo ocurre en los 2 meses posteriores al inicio de la administración del inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la proliferación celular neoplásica reducida que resulta en recuentos de

10 plaquetas de menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre del individuo ocurre en el 1 mes posterior al inicio de la administración del inhibidor de la telomerasa. En algunos casos, el individuo es resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa. En algunos casos, la proliferación de células progenitoras neoplásicas resulta en recuentos de plaquetas superiores a aproximadamente  $100 \times 10^9 /\text{l}$  en la sangre del individuo. En algunos casos, como en la MF, la proliferación de células progenitoras neoplásicas reducidas produce un nivel de hemoglobina modificado de al menos 90 g/l, o 100 g/l o 110 g/l o 120 g/l. En algunos casos, como en el caso de la MF, la reducción de la proliferación de células progenitoras neoplásicas da como resultado un recuento absoluto modificado de neutrófilos de al menos  $1,0 \times 10^9 /\text{l}$  o al menos  $2,0 \times 10^9 /\text{l}$ . En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al componente de ARN de la telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de

20 bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En algunos casos de cualquiera de los casos en la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o

25 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico es un resto palmitoílo (C16). En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el

35 inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el individuo lleva una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo. En algunos casos de cualquiera de

45 los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En algunos casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción de la carga alélica de JAK2. En algunos casos, el individuo es un humano.

50 También se describen en el presente documento procedimientos para reducir la proliferación de células progenitoras neoplásicas en un individuo diagnosticado o con sospecha de trombocitemia esencial, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de la telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de la telomerasa reduce la proliferación de células progenitoras neoplásicas en el individuo. En algunos casos, la proliferación de células progenitoras neoplásicas resulta en recuentos de plaquetas de menos de aproximadamente  $600 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre del individuo. En algunos casos, la proliferación de células progenitoras neoplásicas resulta en recuentos de plaquetas de menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre del individuo. En algunos casos de cualquiera de las realizaciones en este documento, el individuo no experimenta un acontecimiento tromboembólico. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la proliferación celular neoplásica reducida que resulta en recuentos de plaquetas de menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la

60 sangre del individuo ocurre en los 2 meses posteriores al inicio de la administración del inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la proliferación celular neoplásica reducida que resulta en recuentos de plaquetas de menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre del individuo ocurre en el 1 mes posterior al inicio de la administración del inhibidor de la telomerasa. En algunos casos, el individuo es resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa. En algunos casos, la terapia previa sin inhibidor de telomerasa es hidroxiurea, anagrelida o interferón  $\alpha$ -2B. En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al

65

componente de ARN de la telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En algunos casos de cualquiera de los casos en la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico es un resto palmitoílo (C16). En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el individuo lleva una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En algunos casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción de la carga alélica de JAK2. En algunos casos, el individuo es un humano.

También se describen en el presente documento procedimientos para mantener recuentos de plaquetas en sangre de menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre de un individuo diagnosticado o con sospecha de trombocitemia esencial, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de la telomerasa al individuo, donde la administración del inhibidor de la telomerasa mantiene el recuento de plaquetas en sangre de menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en el individuo. En algunos casos, el inhibidor de la telomerasa se administra no más de una vez cada dos semanas. En otros casos, el inhibidor de la telomerasa se administra para mantener recuentos de plaquetas en sangre de entre aproximadamente  $150 \times 10^3 /\mu\text{l}$  a aproximadamente  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre de un individuo. En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al componente de ARN de la telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGT- TAGACAA. En algunos casos de cualquiera de los casos en la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico es un resto palmitoílo (C16). En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el individuo lleva una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la

administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En algunos casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción de la carga alélica de JAK2. En algunos casos, el individuo es resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa.

5 En algunos casos, la terapia previa sin inhibidor de telomerasa es hidroxiurea, anagrelida o interferón  $\alpha$ -2B. En algunos casos, el individuo es un humano.

Además, se describen en el presente documento procedimientos para aliviar al menos un síntoma asociado con policitemia vera (PV) en un individuo que lo necesita, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de telomerasa alivia al menos un síntoma asociado con policitemia vera (PV). En algunos casos, el síntoma comprende dolor de cabeza, mareos o aturdimiento, dolor en el pecho, debilidad, desmayos, cambios en la visión, entumecimiento u hormigueo de las extremidades, disnea, debilidad o sensación de cansancio, esplenomegalia, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de la boca o las encías o melena. En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al componente de ARN de la telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En algunos casos de cualquiera de los casos en la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico es un resto palmitoílo (C16). En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento eritroide. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-eritroide. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el individuo lleva una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo. En algunos casos, el individuo es resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa. En algunos casos, el individuo es un humano.

Además, se describen en el presente documento procedimientos para aliviar al menos un síntoma asociado con mielofibrosis en un individuo que lo necesita, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de telomerasa alivia al menos un síntoma asociado con mielofibrosis. En algunos casos, el síntoma comprende esplenomegalia y dolor esplénico, saciedad temprana, anemia, dolor óseo, cansancio, fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso, debilidad, desmayos, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de la boca o las encías, melena o accidente cerebrovascular. En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al componente de ARN de la telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En algunos casos de cualquiera de los casos en la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico es un resto palmitoílo (C16). En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad

terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el individuo lleva una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En algunos casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la carga alélica de JAK2. En algunos casos, el individuo es resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa. En algunos casos, el individuo es un humano.

También se describen en el presente documento procedimientos para reducir la proliferación de células progenitoras neoplásicas en un individuo diagnosticado o con sospecha de neoplasia mieloproliferativa o síndrome mielodisplásico, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de la telomerasa al individuo, donde la administración del inhibidor de la telomerasa reduce la fibrosis de la médula ósea en el individuo. También se describen en el presente documento procedimientos en pacientes con MF para mantener recuentos de plaquetas de más de aproximadamente  $100 \times 10^9/l$  en la sangre del individuo, el procedimiento comprende administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de telomerasa aumenta el recuento de plaquetas. También se describen en el presente documento procedimientos en pacientes con MF para mantener el nivel de hemoglobina de al menos 90 g/l, o 100 g/l o 110 g/l o 120 g/l, el procedimiento comprende administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de la telomerasa aumenta los niveles de hemoglobina. También se describen en el presente documento procedimientos en pacientes con MF para mantener un recuento absoluto de neutrófilos de al menos  $1,0 \times 10^9/l$  o al menos  $2,0 \times 10^9/l$ , el procedimiento comprende administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de la telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de la telomerasa aumenta los recuentos de neutrófilos. En algunos casos, el inhibidor de la telomerasa se administra no más de una vez cada dos semanas. En otros casos, el inhibidor de la telomerasa se administra para mantener recuentos de plaquetas en sangre de entre aproximadamente  $150 \times 10^3/\mu l$  a aproximadamente  $400 \times 10^3/\mu l$  en la sangre de un individuo. En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al componente de ARN de la telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGT- TAGACAA. En algunos casos de cualquiera de los casos en la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico es un resto palmitoílo (C16). En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg.

Además, se describen en el presente documento procedimientos para aliviar al menos un síntoma asociado con leucemia mieloide aguda en un individuo que lo necesita, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de telomerasa alivia al menos un síntoma asociado con leucemia mieloide aguda. En algunos casos, los síntomas comprenden esplenomegalia y dolor esplénico, saciedad temprana, anemia, dolor óseo, cansancio, fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso, debilidad, desmayos, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de la boca o las encías, melena o accidente cerebrovascular. En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al componente de ARN de la

telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En algunos casos de cualquiera de las realizaciones de la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de las realizaciones de la presente invención, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico es un resto palmitoílo (C16).

En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En algunos casos, el individuo lleva una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En algunos casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción de la carga alélica de JAK2. En algunos casos, el individuo es resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa. En algunos casos, el individuo es un humano.

También se describen en el presente documento procedimientos para aliviar al menos un síntoma asociado con el síndrome mielodisplásico, como, por ejemplo, anemia refractaria, anemia refractaria con blastos excesivos, citopenia refractaria con displasia multilinea, citopenia refractaria con displasia unilinea y leucemia mielomonocítica crónica en un individuo que lo necesite, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de la telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de la telomerasa alivia al menos un síntoma asociado con el síndrome mielodisplásico. En algunos casos, los síntomas comprenden disnea, fatiga, debilidad, desmayos, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de la boca o las encías, melena, petequias o accidente cerebrovascular. En algunos casos de cualquiera de los casos presentes, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido. En algunos casos, el oligonucleótido es complementario al componente de ARN de la telomerasa. En algunos casos, el oligonucleótido tiene una longitud de 10-20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En algunos casos de cualquiera de los casos en la presente invención, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico de tiofosforamidato N3'→P5'.

En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'→P5'. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el oligonucleótido comprende además un resto lipídico unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el resto lipídico está unido al extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido a través de un conector. En algunos casos, el conector es un conector de glicerol o aminoglicerol. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, el inhibidor de telomerasa se administra con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, el inhibidor de la telomerasa se formula para la administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva del inhibidor de la telomerasa comprende que entren en contacto una o más células progenitoras neoplásicas con el inhibidor de la telomerasa. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos de cualquiera de los casos en este documento, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina. En algunos casos, el individuo es resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa. En algunos casos, el individuo es un humano.

## DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las **Figuras 1A y 1B** representan el efecto del imetelstat sobre el crecimiento y la diferenciación de los megacariocitos.

La **Figura 2** muestra las curvas de respuesta a la dosis de los megacariocitos de las unidades formadoras de colonias (UFC-mega).

La **Figura 3** muestra los resultados para el punto final primario del estudio (respuesta hematológica) del estudio de fase II para evaluar la actividad del imetelstat (GRN163L) en pacientes con trombocitemia esencial que requieren citorreducción y han fracasado o son intolerantes al tratamiento previo, o que rechazan la terapia estándar (Estudio de fase II TE imetelstat). RC, respuesta completa; RP, respuesta parcial. El tiempo hasta la primera aparición del recuento de plaquetas  $<400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  está representado por formas de diamante, mientras que el tiempo para completar la respuesta se indica mediante círculos.

Las **Figuras 4A y 4B** representan los resultados del Estudio de fase II TE imetelstat para el criterio de valoración secundario del estudio (Carga alélica de JAK2 V617F). PR, respuesta parcial. La Figura 4A representa el porcentaje de carga alélica de JAK2 V617F en función del tiempo en meses desde el momento de los valores iniciales. La Figura 4B describe la mediana de la carga alélica (%) en función del tiempo desde el momento de los valores iniciales.

La **Figura 5** muestra los resultados del Estudio de fase II TE imetelstat para el criterio de valoración exploratorio (UFC-mega).

La **Figura 6** representa el porcentaje de crecimiento celular en cultivo después del tratamiento *in vitro* con imetelstat de células CD34+ obtenidas de un donante sano y células CD34+ de un paciente con LMA en el día 5, día 7 y día 9.

La **Figura 7** representa los efectos del imetelstat sobre el crecimiento y la diferenciación de megacariocitos en un paciente con mielofibrosis primaria.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Esta descripción describe, entre otros, procedimientos para reducir la proliferación de células progenitoras neoplásicas y aliviar los síntomas en individuos. La descripción proporcionada en el presente documento describe, entre otros, procedimientos para usar compuestos inhibidores de la telomerasa para tratar y aliviar los síntomas asociados con las neoplasias mieloproliferativas (NMP), tales como trombocitemia esencial (TE), policitemia vera, mielofibrosis y leucemia mielógena aguda seleccionando como diana a las células progenitoras neoplásicas características de estas enfermedades. La descripción proporcionada en el presente documento también describe, entre otros, procedimientos para usar compuestos inhibidores de la telomerasa para tratar y aliviar los síntomas asociados con los síndromes mielodisplásicos (SMD) tales como, por ejemplo, anemia refractaria, anemia refractaria con blastos excesivos, citopenia refractaria con displasia multilineaje, citopenia refractaria con displasia unilineaje y leucemia mielomonocítica crónica al seleccionar como diana a las células progenitoras neoplásicas responsables de producir el número anormalmente alto de células características de estas enfermedades. Los inventores han hecho el sorprendente descubrimiento de que los inhibidores de la telomerasa (como el imetelstat) pueden reducir efectivamente los niveles de plaquetas en sangre circulantes en individuos con NMP y SMD. Además, esta reducción en los niveles de plaquetas se observa independientemente de la mutación asociada a la TE común en el gen Janus quinasa 2 (JAK2; visto en aproximadamente el 50 % de los casos de TE) y es efectiva en individuos que anteriormente eran resistentes al tratamiento con hidroxiurea, que es un tratamiento de vanguardia habitual contra la TE. También se describen en el presente documento procedimientos para usar inhibidores de la telomerasa (por ejemplo, imetelstat) para mantener los recuentos de plaquetas en sangre en rangos relativamente normales en la sangre de individuos diagnosticados o sospechosos de tener TE. Sin limitarse a la teoría y, a diferencia de otros tratamientos habituales contra NMP y SMD, los compuestos inhibidores de la telomerasa utilizados en la presente invención parecen inhibir específicamente las células progenitoras neoplásicas que provocan la malignidad responsable de esta afección.

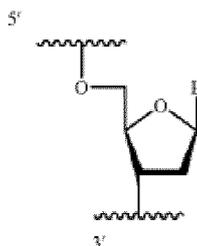
## I. Técnicas generales

La práctica de la invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales en química de ácidos nucleicos, biología molecular, microbiología, biología celular, bioquímica e inmunología, que son bien conocidas por los expertos en la materia. Dichas técnicas se explican completamente en la literatura, como la clonación molecular: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989) y Molecular Cloning: A Laboratory Manual, third edition (Sambrook and Russel, 2001), (en lo sucesivo denominado "Sambrook"); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987, incluidos los suplementos de 2001); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994). Los ácidos nucleicos pueden sintetizarse *in vitro* mediante técnicas de síntesis química bien conocidas, como se describe en, p. ej., Carruthers (1982) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 47:411-418; Adams (1983) J. Am. Chem. Soc. 105:661; Belousov (1997) Nucleic Acids Res. 5 25:3440-3444; Frenkel (1995) Free Radic. Biol. Med. 19:373-380; Blommers (1994) Biochemistry 33:7886-7896; Narang (1979) Meth. Enzymol. 68:90; Brown (1979) Meth. Enzymol. 68:109; Beaucage (1981) Tetra. Lett. 22:1859; Komberg and Baker, DNA Replication, 2nd Ed.

(Freeman, San Francisco, 1992); Scheit, Nucleotide Analogs (John Wiley, New York, 1980); Uhlmann and Peyman, Chemical Reviews, 90:543-584, 1990.

## II. Definiciones

5 El término "nucleósido" se refiere a un resto que tiene la estructura general representada a continuación, donde B representa una nucleobase y el carbono 2' puede sustituirse como se describe a continuación. Cuando se incorpora a un oligómero o polímero, el carbono 3' se une además a un átomo de oxígeno o nitrógeno.



10 Esta estructura incluye formas 2'-desoxi y 2'-hidroxilo (es decir, desoxirribosa y ribosa) y análogos. Menos habitualmente, un grupo 5'-NH puede ser sustituido por el 5'-oxígeno. Los "análogos", en referencia a los nucleósidos, incluyen nucleósidos sintéticos que tienen restos de nucleobase modificados (véase la definición de "nucleobase" a continuación) y/o restos de azúcar modificados, tales como azúcares 2'-fluoro, y otros análogos. Tales análogos están diseñados típicamente para afectar las propiedades de unión, por ejemplo, estabilidad, especificidad o similares. El término nucleósido incluye los nucleósidos naturales, incluidas las formas 2'-desoxi y 2'-hidroxilo, por ejemplo, como se describe en Komberg and Baker, DNA Replication, 2nd Ed. (Freeman, San Francisco, 1992), y análogos. "Análogos", en referencia a nucleósidos, incluye nucleósidos sintéticos que tienen restos nucleobase modificados (véase la definición de "nucleobase" más adelante) y/o restos de azúcar modificados, por ejemplo, descritos generalmente por Scheit, Nucleotide Analogs (John Wiley, New York, 1980). Dichos análogos incluyen nucleósidos sintéticos diseñados para mejorar las propiedades de unión, por ejemplo, estabilidad, especificidad o similares, como los descritos por Uhlmann and Peyman, Chemical Reviews 90:543-584, 1990). Un oligonucleótido que contiene dichos nucleósidos, y que típicamente contiene enlaces internucleosídicos resistentes a la nucleasa sintética se puede denominar a sí mismo como un "análogo".

Un "polinucleótido" u "oligonucleótido" se refiere a un polímero u oligómero de subunidad de ribosa y/o nucleósido desoxirribosa que tiene entre aproximadamente 2 y aproximadamente 200 subunidades contiguas. Las subunidades de nucleósidos se pueden unir mediante una variedad de enlaces entre subunidades, incluidos, entre otros, fosfodiéster, fosfotriéster, metilfosfonato, P3'→N5' fosforamidato, N3'→P5' fosforamidato, N3'→P5' tiofosforamidato y enlaces de fosforotioato. El término también incluye tales polímeros u oligómeros que tienen modificaciones, conocidas por un experto en la técnica, para el azúcar (por ejemplo, sustituciones 2'), la base (véase la definición de "nucleósido" con anterioridad) y los extremos 3' y 5'. En los casos en que el resto oligonucleotídico incluye una pluralidad de enlaces entre subunidades, cada enlace puede formarse usando la misma química, o puede usarse una mezcla de químicos de enlace. Cuando un oligonucleótido está representado por una secuencia de letras, como "ATGUCCTG", se entenderá que los nucleótidos están en orden 5'→3' de izquierda a derecha. La representación de la secuencia de bases del oligonucleótido de esta manera no implica el uso de ningún tipo particular de subunidad internucleosídica en el oligonucleótido.

40 Una "nucleobase" incluye (i) nucleobases de ADN y ARN nativas (uracilo, timina, adenina, guanina y citosina), (ii) nucleobases modificadas o análogos de nucleobase (por ejemplo, 5-metilcitosina, 5-bromouracilo o inosina) y (iii) análogos de nucleobase. Un análogo de nucleobase es un compuesto cuya estructura molecular imita la de una base típica de ADN o ARN.

45 El término "lípidos" se usa ampliamente en el presente documento para abarcar sustancias que son solubles en disolventes orgánicos, pero escasamente solubles, en todo caso, en agua. El término lípidos incluye, pero no se limita a, hidrocarburos, aceites, grasas (como ácidos grasos y glicéridos), esteroides, esteroides y formas derivadas de estos compuestos. En algunos casos, los lípidos son ácidos grasos y sus derivados, hidrocarburos y sus derivados, y esteroides, como el colesterol. Los ácidos grasos generalmente contienen números pares de átomos de carbono en una cadena lineal (normalmente de 12 a 24 carbonos) y pueden estar saturados o insaturados, y pueden contener o modificarse para contener una variedad de grupos sustituyentes. Por simplicidad, el término "ácido graso" también abarca derivados de ácidos grasos, tales como grasas o ésteres. En algunos casos, el término "lípidos" también incluye compuestos anfipáticos que contienen restos tanto lipídicos como hidrofílicos.

55 Un "inhibidor de la telomerasa" es un compuesto que es capaz de reducir o inhibir la actividad de la enzima transcriptasa inversa de la telomerasa en una célula de mamífero. Tal inhibidor puede ser un fármaco tradicional, como se describe en el presente documento, o un inhibidor modelo de hTR que incluye un oligonucleótido, como se describe

en el presente documento. En un aspecto, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat o imetelstat sódico. En otro aspecto, el inhibidor de la telomerasa es GRN163L.

5 Un "inhibidor modelo de hTR" es un compuesto que bloquea la región modelo del componente de ARN de la telomerasa humana, por lo que inhibe la actividad de la enzima. El inhibidor es típicamente un oligonucleótido que puede hibridarse con esta región. En algunos casos, el oligonucleótido incluye una secuencia efectiva para hibridarse con una porción más específica de esta región, que tiene la secuencia 5'-CUAACCCUAAC-3'.

10 Se dice que un compuesto "inhibe la proliferación de células" si la proliferación de células en presencia del compuesto es menor que la observada en ausencia del compuesto. Es decir, la proliferación de las células se ralentiza o se detiene en presencia del compuesto. La inhibición de la proliferación de células cancerosas puede evidenciarse, por ejemplo, por reducción en el número de células o tasa de expansión de células, reducción en la masa tumoral o la tasa de crecimiento tumoral, o aumento en la tasa de supervivencia de un sujeto que está siendo tratado.

15 Un oligonucleótido que tiene "enlaces resistentes a nucleasas" se refiere a uno cuya columna vertebral tiene enlaces de subunidades que son sustancialmente resistentes a la escisión de nucleasas, en forma no hibridada o hibridada, por nucleasas extracelulares e intracelulares comunes en el cuerpo; es decir, el oligonucleótido muestra poca o ninguna escisión de nucleasa en condiciones normales de nucleasa en el cuerpo al que está expuesto el oligonucleótido. Los enlaces N3'→P5' fosforamido (NP) o N3'→P5' tiofosforamido (NPS) descritos a continuación son resistentes a las nucleasas.

20 Un "individuo" puede ser un mamífero, como cualquier organismo modelo de laboratorio común. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, primates humanos y no humanos, animales de granja, animales deportivos, mascotas, ratones, ratas y otros roedores. En algunas realizaciones, un individuo es un humano.

25 Una "cantidad efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva" o "cantidad clínicamente efectiva" se refiere a una cantidad de compuesto terapéutico, como el inhibidor de la telomerasa, administrada a un sujeto mamífero, ya sea como una dosis única o como parte de una serie de dosis, que es efectiva para producir un efecto terapéutico deseado.

30 Como se usa en el presente documento, "células neoplásicas" se refieren a células que exhiben un crecimiento relativamente autónomo, de modo que exhiben un fenotipo de crecimiento aberrante caracterizado por una pérdida significativa de control de la proliferación celular. Las células neoplásicas comprenden células que pueden replicarse activamente o en un estado de reposo no replicativo temporal (G<sub>1</sub> o G<sub>0</sub>); de manera similar, las células neoplásicas pueden comprender células que tienen un fenotipo bien diferenciado, un fenotipo pobremente diferenciado o una mezcla de ambos tipos de células. Por lo tanto, no todas las células neoplásicas son necesariamente células replicantes en un momento dado. Las "células neoplásicas" abarcan las células en neoplasmas benignos y células en neoplasmas malignos.

40 Como se usa en el presente documento, "células progenitoras neoplásicas" se refiere a células de una composición celular que poseen la capacidad de convertirse en neoplásicas.

45 Como se usa en el presente documento, el término "neoplasia" o "neoplásico" se refiere al crecimiento anormal de células nuevas. A diferencia de la hiperplasia, la proliferación neoplásica persiste incluso en ausencia de un estímulo original.

Como se usa en este documento, la forma singular "un", "una/o" y "el/ella" incluye referencias en plural a menos que se indique lo contrario.

50 Se entiende que los aspectos y las realizaciones de la invención descrita en el presente documento incluyen "que comprende", "que consiste" y "que consiste esencialmente en" aspectos y realizaciones.

55 Se pretende que cada limitación numérica máxima dada a lo largo de esta especificación incluya todas las limitaciones numéricas inferiores, como si tales limitaciones numéricas inferiores se escribieran expresamente en este documento. Cada limitación numérica mínima dada a lo largo de esta especificación incluirá cada limitación numérica más alta, como si tales limitaciones numéricas más altas se escribieran expresamente en este documento. Cada rango numérico dado a lo largo de esta especificación incluirá cada rango numérico más estrecho que se encuentre dentro de un rango numérico más amplio, como si todos los rangos numéricos más estrechos estuvieran expresamente escritos en este documento.

### 60 **III. Compuestos inhibidores de la telomerasa**

65 La telomerasa es una ribonucleoproteína que cataliza la adición de secuencias de repetición teloméricas (que tienen la secuencia 5'-TTAGGG-3' en humanos) a los extremos cromosómicos. Véase e.g. Blackburn, 1992, Ann. Rev. Biochem. 61:113-129. La enzima se expresa en la mayoría de las células cancerosas pero no en las células somáticas maduras. La pérdida de ADN telomérico puede desempeñar un papel en la activación de la senescencia celular; véase Harley, 1991, Mutation Research 256:271-282. Se ha demostrado que una variedad de células cancerosas son

telomerasa positivas, incluidas las células de cáncer de piel, tejido conectivo, adiposo, mama, pulmón, estómago, páncreas, ovario, cuello uterino, útero, riñón, vejiga, colon, próstata, sistema nervioso central (SNC), retina y tumores hematológicos (como mieloma, leucemia y linfoma). La selección de la telomerasa puede ser efectiva al proporcionar tratamientos que discriminan en gran medida entre las células malignas y las normales, lo que evita muchos de los efectos secundarios nocivos que pueden acompañar a los regímenes quimioterapéuticos que seleccionan como diana indiscriminadamente a las células en división.

Los inhibidores de la telomerasa identificados hasta la fecha incluyen oligonucleótidos (por ejemplo, oligonucleótidos que tienen enlaces resistentes a las nucleasas), así como fármacos tradicionales. Se puede encontrar más información sobre los compuestos inhibidores de la telomerasa en la Patente de los EE. UU. N.º 7.998.938.

#### A. *Fármacos tradicionales*

Los inhibidores de la telomerasa basados en fármacos tradicionales incluyen, por ejemplo, BRACO19 ((9-(4-(N,N-dimetilamino)fenilamino)-3,6-bis(3-pirrolodino propionamido)acridina (véase Mol. Pharmacol. 61 (5): 1154-62, 2002); DODC (dietiloxadiazolcarbocianina) y telomestatina. Estos compuestos pueden actuar como estabilizadores G-quad, que promueven la formación de una configuración G-quad inactiva en el componente de ARN de la telomerasa. Otros inhibidores de la telomerasa basados en fármacos tradicionales incluyen BIBR1532 (ácido 2-[(E)-3-naften-2-il but-2-enoilamino] benzoico) (véase Ward & Autexier, Mol. Pharmacol. 68:779-786, 2005; y J. Biol. Chem. 277 (18): 15566-72, 2002); AZT y otros análogos de nucleósidos, como ddG y ara-G (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. N.º 5.695.932 y 6.368.789), y ciertos derivados de tiopiridina, benzo[b]tiofeno y pirido[b]tiofeno, descritos por Gaeta *et al.* en la patente de EE. UU. N.º 5.767.278, 5.770.613, 5.863.936, 5.656.638 y 5.760.062. Otro ejemplo es el 3-clorobenzo[b]tiofeno-2-carboxi-2'-[(2,5-diclorofenilamino)tia]hidrazina, descrito en la patente de EE. UU. N.º 5.760.062.

#### B. *Inhibidores de la telomerasa basados en oligonucleótidos Secuencia y composición*

Los genes que codifican los componentes de proteínas y ARN de la telomerasa humana se han clonado y secuenciado (véase la patente de EE. UU. N.º 6.261.836 y 5.583.016). Los oligonucleótidos pueden dirigirse contra el ARNm que codifica el componente de la proteína de la telomerasa (cuya forma humana se conoce como transcriptasa inversa de la telomerasa humana, o hTERT) o el componente de ARN de la holoenzima de la telomerasa (cuya forma humana se conoce como ARN de la telomerasa humana) o hTR).

La secuencia de nucleótidos del componente de ARN de la telomerasa humana (hTR) se muestra en el listado de secuencias a continuación (SEQ ID NO: 1), en la dirección 5' a 3'. La secuencia se muestra usando las abreviaturas estándar para ribonucleótidos; los expertos en la materia reconocerán que la secuencia también representa la secuencia del ADNc, en el que los ribonucleótidos se reemplazan por desoxirribonucleótidos, con la uridina (U) reemplazada por timidina (T). La secuencia molde del componente de ARN se encuentra dentro de la región definida por los nucleótidos 46-56 (5'-CUAACCCUAAC-3'), que es complementaria a una secuencia telomérica compuesta por aproximadamente uno y dos tercios de unidades de repetición teloméricas. La región molde funciona para especificar la secuencia de las repeticiones teloméricas que la telomerasa agrega a los extremos del cromosoma y es esencial para la actividad de la enzima telomerasa (véase, p. ej., Chen *et al.*, Cell 100: 503-514, 2000; Kim *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98 (14):7982-7987, 2001). El diseño de antisentido, ribozima o pequeños ARN interferentes (ARNsi) para inhibir o causar la destrucción de los ARNm es bien conocido (véase, por ejemplo, Lebedeva, I, *et al.* Annual Review of

Pharmacology and Toxicology, Vol. 41: 403-419, April 2001; Macejak, D, *et al.*, Journal of Virology, Vol. 73 (9): 7745-7751, September 1999, and Zeng, Y. *et al.*, PNAS Vol. 100 (17) p. 9779-9784, Aug. 19, 2003) y dichos agentes pueden diseñarse para dirigirse al ARNm de la hTERT y, por lo tanto, inhibir la producción de proteína hTERT en una célula diana, como una célula cancerosa (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. N.º 6.444.650 y 6.331.399).

Los oligonucleótidos que se dirigen a hTR (es decir, el componente de ARN de la enzima) actúan como inhibidores de la actividad de la enzima telomerasa al bloquear o interferir de otro modo con la interacción de hTR con la proteína hTERT, cuya interacción es necesaria para la función de la telomerasa (véase, por ejemplo, Villeponteau *et al.*, patente de EE. UU. N.º 6.548.298).

Una región diana de hTR preferida es la región molde, que abarca los nucleótidos 30-67 de la SEQ ID NO:1 (GGGUUGCGGAGGGUGGGCCUGGGAGGGGUGGUGGCAUUUUUUGUCUAACCCUAACUGAGAAGGGCGUA GCGCCGUGCUUUUJGCUCCCGCGCGCUGUUUUUCUCGUGACUUUCAGCGGGCGGAAAAGCCUCGGCCUG CCGCCUUCACCGUUCUAUUCUAGAGCAAACAAAAAUGUCAGCUGCUGGCCCGUUCGCCUCCCGGGGACCU GCGGCGGGUGCGCCUGCCCAGCCCCGAACCCCGCCUGGAGCCGCGGUCGCGCCCGGGGCUUCUCCGGAGGC ACCCACUGCCACCGCGAAGAGUUGGGCUCUGUCAGCCGCGGGUCUCUGGGGCGAGGGCGAGGUUCACC GUUUCAGGCCGAGGAAGAGGAACGGAGCGAGUCCCGCCGCGGCGGAUUCUCCUGAGCUGUGGGACGUGC ACCCAGGACUCGGCUCACACAUGCAGUUCGCUUUCUGUUGGGGGAACGCCGAGUCGUGCGCAUCCGU CACCCUCGCGCGCAGUGGGGGCUUGUAACCCCAAACCCUGACUGACUGGGCCAGUGUGCU). Los oligonucleótidos que se dirigen a esta región se denominan en el presente documento "inhibidores molde de hTR" (véase, por ejemplo, Herbert *et al.*, Oncogene 21 (4):638-42 (2002).) Preferiblemente, dicho oligonucleótido incluye

una secuencia que es complementaria o casi complementaria a alguna porción de la región de 11 nucleótidos que tiene la secuencia 5'-CUAACCCUAAC-3'(SEQ ID NO: 23).

5 Otra región diana preferida es la región que abarca los nucleótidos 137-179 de hTR (véase Pruzan et al., Nucl. Acids Research, 30:559-568, 2002). Dentro de esta región, la secuencia que abarca 141-153 es una diana preferida. La publicación PCT WO 98/28442 describe el uso de oligonucleótidos de al menos 7 nucleótidos de longitud para inhibir la telomerasa, donde los oligonucleótidos están diseñados para ser complementarios a porciones accesibles de la secuencia hTR fuera de la región molde, incluidos los nucleótidos 137-196, 290 -319 y 350-380 de hTR. La secuencia diana de hTR preferida se proporciona a continuación, y se identifica por SEQ ID NOS: 2-22).

10 La región del oligonucleótido terapéutico que se dirige a la secuencia de hTR es preferiblemente exactamente complementaria a la secuencia de hTR correspondiente. Si bien se pueden tolerar desajustes en ciertos casos, se espera que disminuyan la especificidad y la actividad del conjugado oligonucleotídico resultante. En casos particulares, la secuencia de bases del oligonucleótido se selecciona así para incluir una secuencia de al menos 5 nucleótidos exactamente complementarios a la diana hTR, y se puede obtener una inhibición de la telomerasa mejorada si se emplean longitudes crecientes de secuencia complementaria, como al menos 8, al menos 10, al menos 12, al menos 13 o al menos 15 nucleótidos exactamente complementarios a la diana hTR. En otros casos, la secuencia del oligonucleótido incluye una secuencia de al menos 5 a 20, de al menos 8 a 20, de al menos 10 a 20 o de al menos 10 a 15 nucleótidos exactamente complementarios a la secuencia diana hTR.

20 Se puede obtener una actividad inhibidora de la telomerasa óptima cuando se selecciona la longitud completa del oligonucleótido para que sea complementaria a la secuencia diana de hTR. Sin embargo, no es necesario que la longitud total del oligonucleótido sea exactamente complementaria a la secuencia diana, y la secuencia oligonucleotídica puede incluir regiones que no son complementarias a la secuencia diana. Dichas regiones pueden agregarse, por ejemplo, para conferir otras propiedades al compuesto, tales como secuencias que facilitan la purificación. Alternativamente, un oligonucleótido puede incluir múltiples repeticiones de una secuencia complementaria a una secuencia diana hTR.

25 Si el oligonucleótido va a incluir regiones que no son complementarias a la secuencia diana, dichas regiones se posicionan típicamente en uno o ambos extremos 5' o 3'. Las secuencias ejemplares dirigidas al ARN de la telomerasa humana (hTR) incluyen las siguientes:

30

Secuencia diana de hTR	Región de SEQ ID N.º: 1	SEQ ID N.º:
ACATTTTGTGTTGCTCTAG	140-179	2
GCTCTAGAATGAACGGTGGAAAGGCGGCAGG	137-146	3
GTGGAGGCGGCAGG	137-151	4
GGTAGGCGGCAGG	137-149	5
GTGGTAGGCGCA	139-151	6
GTGGTAGGCGG	141-151	7
CGGTGGTAGGCGG	141-153	8
ACGGTGGTAGGCGG	142-154	9
AACGGTGGTAGGCGGC	143-155	10
ATGAACGGTGGTAGGCGG	144-158	11
TAGGGTTAGACAA	42-54	12
CAGTTAGGGTTAG	46-58	13
TAGGGTTAGACA	42-53	14
TAGGGTTAGAC	42-52	15
GTTAGGGTTAG	46-56	16
GTTAGGGTTAGAC	44-56	17
GTTAGGGTTAGACAA	42-54	18
GGGTTAGAC	44-52	19
CAGTTAGGG	50-58	20
CCCTTCTCAGTT	54-65	21
CGCCCTTCTCAG	56-67	22

- 5 Los enlaces internucleosídicos en el oligonucleótido pueden incluir cualquiera de las químicas de oligonucleótidos disponibles, p. ej., fosfodiéster, fosfotriéster, metilfosfonato, P3'→N5' fosforamidato, N3'→P5' fosforamidato, N3'→P5' tiofosforamidato y fosforotioato. Típicamente, pero no necesariamente, todos los enlaces internucleosídicos dentro del oligonucleótido serán del mismo tipo, aunque el componente oligonucleotídico puede sintetizarse usando una mezcla de diferentes enlaces.
- 10 En algunos casos, el oligonucleótido tiene al menos un enlace N3'→ P5' fosforamidato (NP) o N3'→ P5' tiofosforamidato (NPS), cuyo enlace puede estar representado por la estructura: 3'-(NH--P(=O)(--XR)--O)-5', en el que X es O o S y R se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo y arilo; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, cuando XR es OH o SH. En otros casos, el oligonucleótido incluye todos los enlaces NP o, en algunos casos, todos los enlaces NPS.
- 15 En un caso, la secuencia para un oligonucleótido inhibidor de la plantilla de hTR es la secuencia complementaria a los nucleótidos 42-54 de SEQ ID NO: 1 anterior. El oligonucleótido que tiene esta secuencia (TAGGGTTAGACAA; SEQ ID NO:12) y enlaces de tiofosforamidato (NPS) N3'→P5' se designa aquí como GRN163. Véanse, por ejemplo, Asai et al., Cancer Research 63:3931-3939 (2003) y Gryaznov et al., Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 22(5-8):577-81 (2003).
- 20

El oligonucleótido GRN163 administrado solo ha mostrado actividad inhibitoria *in vitro* en cultivo celular, incluidas

células cancerosas de carcinoma epidermoide, epitelio de seno, carcinoma renal, adenocarcinoma renal, páncreas, cerebro, colon, próstata, leucemia, linfoma, mieloma, epidermis, cérvix, ovario e hígado.

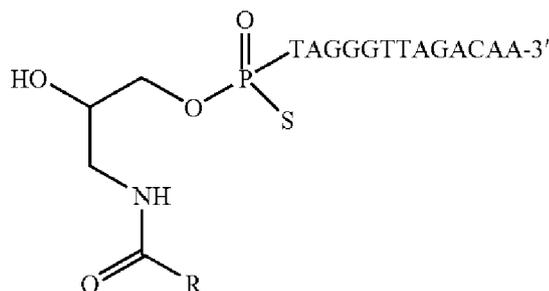
5 El oligonucleótido GRN163 también se ha probado y ha demostrado ser terapéuticamente efectivo en una variedad de modelos de tumores animales, que incluyen ovario y pulmón, tanto de células pequeñas como de células no pequeñas (véase, por ejemplo, la Patente de los EE. UU. N.º 7.998.938).

### C. Conjugados lípido-oligonucleótido

10 En algunos casos, los inhibidores de la telomerasa basados en oligonucleótidos descritos en el presente documento incluyen al menos un grupo lipídico unido covalentemente (véase la publicación de EE. UU. N.º 2005/0113325). Esta modificación proporciona propiedades superiores de absorción celular, de modo que se puede obtener un efecto biológico equivalente usando cantidades más pequeñas del oligonucleótido conjugado en comparación con la forma no modificada. Cuando se aplica al entorno terapéutico humano, esto puede traducirse en menores riesgos de toxicidad y ahorro de costes.

15 El grupo lipídico L es típicamente un hidrocarburo alifático o ácido graso, que incluye derivados de hidrocarburos y ácidos grasos, con ejemplos como compuestos saturados de cadena lineal que tienen 14-20 carbonos, tales como ácido mirístico (tetradecanoico), ácido palmítico (hexadecanoico) y ácido esteárico (octadecanoico), y sus correspondientes formas de hidrocarburos alifáticos, tetradecano, hexadecano y octadecano. Ejemplos de otros grupos lipídicos adecuados que pueden emplearse son los esteroides, como el colesterol, y los ácidos grasos e hidrocarburos sustituidos, particularmente las formas polifluoradas de estos grupos. El alcance del grupo lipídico L incluye derivados tales como derivados de amina, amida, éster y carbamato. El tipo de derivado a menudo está determinado por el modo de enlace con el oligonucleótido, como se ejemplifica a continuación:

25



cuando -R es  $-(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$  (palmitoilo). Este compuesto se designa aquí como GRN163L (imetelstat).

30 En una estructura ejemplar, el resto lipídico es palmitoilamida (derivado del ácido palmítico), conjugado a través de un conector de aminoglicerol al grupo 5' tiofosfato de un oligonucleótido enlazado a NPS. El oligonucleótido NPS que tiene la secuencia mostrada para GRN163 y conjugada de esta manera (como se muestra a continuación) se designa aquí como GRN163L (imetelstat). En una segunda estructura ejemplar, el lípido, como la palmitoilamida, se conjuga a través del grupo amino terminal 3' de un oligonucleótido NPS.

35

### D. Composiciones farmacéuticas

40 Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos inhibidores de la telomerasa descritos en el presente documento pueden formularse con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable para formularse en una composición farmacéutica.

45 Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos inhibidores de la telomerasa se pueden administrar en forma de composiciones farmacéuticas. Estos compuestos pueden administrarse por una variedad de vías, que incluyen oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular e intranasal. Estos compuestos son efectivos como composiciones inyectables y orales. Dichas composiciones se preparan de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y comprenden al menos un compuesto activo. Cuando se emplean como composiciones orales, los compuestos inhibidores de la telomerasa descritos en este documento están protegidos de la digestión ácida en el estómago por un protector farmacéuticamente aceptable.

50 Esta descripción también describe composiciones farmacéuticas que contienen, como ingrediente activo, un compuesto inhibidor de la telomerasa asociado con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. Al hacer las composiciones, el ingrediente activo generalmente se mezcla con un excipiente o vehículo, se diluye con un excipiente o vehículo o se incluye dentro de dicho excipiente o vehículo que puede tener la forma de una cápsula, sobre, papel u otro recipiente. Cuando el excipiente o vehículo sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido, que actúa como vehículo, portador o medio para el ingrediente activo. Por lo tanto, las

55

composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, sobres, obleas, elixires, suspensiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, aerosoles (como un medio sólido o líquido), ungüentos que contienen, por ejemplo, hasta un 10 % en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, disoluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

Al preparar una formulación, puede ser necesario moler el compuesto liofilizado activo para proporcionar el tamaño de partícula apropiado antes de combinarlo con los otros ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, normalmente se muele a un tamaño de partícula de menos de 200 mallas. Si el compuesto activo es sustancialmente hidrosoluble, el tamaño de partícula se ajusta normalmente mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, p. ej., alrededor de 40 mallas.

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manejar una sal correspondiente del compuesto activo, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se exponen en Berge et al., 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts," J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19. Por ejemplo, si el compuesto es aniónico, o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico (por ejemplo,  $-\text{COOH}$  puede ser  $-\text{COO}^-$ ), entonces se puede formar una sal con un catión adecuado. Los ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a,  $\text{Na}^+$ . Los ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, iones de amonio (es decir,  $\text{NH}_4^+$ ) e iones de amonio sustituido (por ejemplo,  $\text{NH}_3\text{R}^+$ ,  $\text{NH}_2\text{R}_2^+$ ,  $\text{NHR}_3^+$ ,  $\text{NR}_4^+$ ).

Algunos ejemplos de excipientes o vehículos adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma de acacia, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua estéril, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: sustancias lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; sustancias humectantes; sustancias emulsionantes y de suspensión; sustancias conservantes tales como metil y propilhidroxibenzoatos; sustancias edulcorantes; y sustancias aromatizantes. Las composiciones pueden formularse para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

Las composiciones pueden formularse en una forma de dosificación unitaria, donde cada dosificación contiene de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 100 mg o más, tal como cualquiera de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 mg, de 1 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 30 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 40 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 70 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 80 mg, o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 90 mg, incluido cualquier intervalo entre estos valores, del ingrediente activo. El término "formas de dosificación unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para individuos, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente o vehículo farmacéutico adecuado.

Los compuestos inhibidores de la telomerasa son efectivos en un amplio rango de dosificación y generalmente se administran en una cantidad terapéuticamente efectiva. Sin embargo, se entenderá que la cantidad de los compuestos inhibidores de la telomerasa administrados realmente será determinada por un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, incluida la afección a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el compuesto inhibidor de la telomerasa del ingrediente activo principal se mezcla con un excipiente o vehículo farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, se entiende que el ingrediente activo se dispersa uniformemente por toda la composición, de modo que la composición se puede subdividir fácilmente en formas de dosificación unitarias igualmente efectivas, tales como comprimidos, píldoras y cápsulas.

Los comprimidos o píldoras pueden recubrirse o combinarse para proporcionar una forma de dosificación que ofrezca la ventaja de una acción prolongada y para proteger los compuestos inhibidores de la telomerasa contra la hidrólisis ácida en el estómago. Por ejemplo, el comprimido o la píldora pueden comprender un componente de dosificación interna y uno de dosificación externa, este último en forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase su liberación. Se puede usar una variedad de materiales para tales capas o recubrimientos entéricos, tales materiales que incluyen varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como resina, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

Las formas líquidas en las que las composiciones pueden incorporarse para administración por vía oral o por inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes con sabor adecuado, suspensiones acuosas o aceitosas y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen disoluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se describe anteriormente. Las composiciones pueden administrarse por vía respiratoria oral o nasal para un efecto local o sistémico. Las composiciones en disolventes farmacéuticamente aceptables pueden nebulizarse mediante el uso de gases inertes. Las disoluciones nebulizadas se pueden inhalar directamente desde el dispositivo nebulizador o el dispositivo nebulizador se puede conectar a una tienda de nebulización o a una máquina de respiración de presión positiva intermitente. Las composiciones de disolución, suspensión o polvo también se pueden administrar, por vía oral o nasal, desde dispositivos que administran la formulación de manera apropiada.

#### **IV. Uso de la invención**

Los compuestos inhibidores de la telomerasa (como en las composiciones farmacéuticas) descritos en el presente documento son útiles para modular estados de enfermedad. En algunos casos, el trastorno proliferativo celular está asociado con una mayor expresión o actividad de la telomerasa o el crecimiento celular (como las células progenitoras neoplásicas asociadas con la producción anormal de plaquetas en la trombocitemia esencial (TE), o ambas.

En la presente invención, se describen procedimientos para aliviar al menos un síntoma asociado con la NMP en un individuo que lo

necesite. Los procedimientos para aliviar al menos un síntoma asociado con el SMD en un individuo que lo necesite se describen aquí. También se describen en el presente documento procedimientos para reducir la proliferación de células progenitoras neoplásicas en pacientes con NMP o SMD, así como procedimientos para mantener las concentraciones de plaquetas sanguíneas y/o las concentraciones de glóbulos rojos y/o las concentraciones de glóbulos blancos en niveles normales en individuos diagnosticados o sospechosos de tener una NMP o un SMD.

Las neoplasias mieloproliferativas, o MPN, son cánceres hematológicos que surgen de células progenitoras mieloides hematopoyéticas malignas en la médula ósea, como las células precursoras de glóbulos rojos, plaquetas y granulocitos. La proliferación de células progenitoras malignas conduce a una sobreproducción de cualquier combinación de glóbulos blancos, glóbulos rojos y/o plaquetas, según la enfermedad. Estas células sobreproducidas también pueden ser anormales, lo que lleva a complicaciones clínicas adicionales. Existen varios tipos de trastornos mieloproliferativos crónicos. Se incluyen en el espectro de la enfermedad MPN la trombocitemia esencial (TE), la policitemia vera (PV), la leucemia mielógena crónica (LMC), la mielofibrosis (MF), la leucemia neutrofílica crónica, la leucemia eosinofílica crónica y la leucemia mielógena aguda (LMA).

Un síndrome mielodisplásico (SMD) es un grupo de síntomas que incluye cáncer de la sangre y la médula ósea. Los síndromes mielodisplásicos (SMD) incluyen enfermedades tales como anemia refractaria, anemia refractaria con exceso de blastos, citopenia refractaria con displasia multilineaje, citopenia refractaria con displasia unilineaje y leucemia mielomonocítica crónica (LMMC). Las células madre sanguíneas inmaduras (blastos) no se convierten en glóbulos rojos, glóbulos blancos o plaquetas sanas. El blasto muere en la médula ósea o poco después de viajar a la sangre. Esto deja menos espacio para que se formen glóbulos blancos, glóbulos rojos y/o plaquetas sanas en la médula ósea.

##### **A. Trombocitemia esencial**

El megacariocito es una célula de la médula ósea responsable de la producción de trombocitos sanguíneos (plaquetas), que son necesarios para la coagulación sanguínea normal. Los megacariocitos normalmente representan 1 de cada 10.000 células de la médula ósea, pero pueden aumentar en número casi 10 veces durante el curso de ciertas enfermedades.

Los megacariocitos se derivan de células precursoras de células madre hematopoyéticas en la médula ósea. Una vez que la célula ha completado la diferenciación y se ha convertido en un megacariocito maduro, comienza el proceso de producción de plaquetas. Si bien se sospecha que muchas citocinas desempeñan un papel en la estimulación de los megacariocitos para producir plaquetas, es la trombopoyetina de la citocina la que induce a los megacariocitos a formar pequeños procesos de protoplaquetas. Las plaquetas se mantienen dentro de estas membranas internas dentro del citoplasma de los megacariocitos. Cada uno de estos procesos de protoplaquetas puede dar lugar a 2000-5000 nuevas plaquetas tras la ruptura. En general, 2/3 de estas plaquetas recién producidas permanecerán en circulación, mientras que 1/3 será secuestrado por el bazo.

La trombocitemia esencial (TE) es un trastorno crónico asociado con una producción aumentada o anormal de plaquetas sanguíneas. La formación de plaquetas en la TE se produce de forma independiente de las citocinas, y los megacariocitos producen plaquetas de manera no regulada. Como las plaquetas están involucradas en la coagulación de la sangre, la producción anormal puede provocar la formación inadecuada de coágulos sanguíneos o hemorragias, lo que aumenta el riesgo de hemorragia gastrointestinal, ataque cardíaco y accidente cerebrovascular.

A menudo, muchos pacientes con TE son asintomáticos; el diagnóstico generalmente ocurre después de que los

recuentos sanguíneos como parte de una revisión de rutina revelen un recuento alto de plaquetas. Cuando los síntomas de la TE están presentes, pueden incluir fatiga o pueden estar relacionados con trastornos o sangrado de vasos pequeños o grandes. Las alteraciones de los vasos pequeños (a menudo considerados de naturaleza vasomotora) pueden provocar: dolor de cabeza, trastornos de la visión o migrañas silenciosas, mareos o aturdimiento, frialdad o azul de los dedos de las manos y pies, o ardor, enrojecimiento y dolor en las manos y los pies ([www.mpnresearchfoundation.org/Essential-Thrombocythemia](http://www.mpnresearchfoundation.org/Essential-Thrombocythemia)). Las complicaciones trombóticas pueden ser bastante graves, lo que lleva a: accidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio (AIT), ataque cardíaco, trombosis venosa profunda o embolia pulmonar (coágulo de sangre en el pulmón). El sangrado puede manifestarse como hematomas fáciles, hemorragias nasales, períodos abundantes, sangrado gastrointestinal o sangre en la orina ([www.mpnresearchfoundation.org/Essential-Thrombocythemia](http://www.mpnresearchfoundation.org/Essential-Thrombocythemia)). Una pequeña minoría de personas con TE puede desarrollar posteriormente leucemia aguda o mielofibrosis, las cuales pueden ser potencialmente mortales. La leucemia mielógena aguda es un tipo de cáncer de sangre y médula ósea que progresa rápidamente. La mielofibrosis es un trastorno progresivo de la médula ósea que produce cicatrices en la médula ósea, anemia severa y agrandamiento del hígado y el bazo.

Según la Organización Mundial de la Salud, el diagnóstico de TE requiere que se cumplan los criterios A1 a A4: (A1) un recuento sostenido de plaquetas  $>450 \times 10^9 /l$ ; (A2) médula ósea que muestre un mayor número de megacariocitos maduros y agrandados y ningún aumento importante del desplazamiento a la izquierda de la granulopoyesis o la eritropoyesis; (A3) no cumple con los criterios de la OMS para policitemia, mielofibrosis primaria, leucemia mielóide crónica, síndrome mielodisplásico u otra neoplasia mielóide; y (A4) con una mutación adquirida o un marcador clónico o sin causa reactiva para la trombocitosis (Swedlow, et al., (2008) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon, IARC Press). Al diagnosticar TE, algunos médicos utilizan los criterios del Comité Británico de Estándares en Hematología (publicados en 2010), que son similares a los criterios de la OMS de 2008 pero difieren en varios aspectos importantes (Beer, et al., (2010) Blood 117(5): 1472-1482).

Las pruebas que se pueden hacer para diagnosticar TE incluyen: (1) análisis de sangre para excluir otras causas de un alto recuento de plaquetas, incluidas pruebas de deficiencia de hierro e indicadores de inflamación (también se descartan otras enfermedades de la sangre que la imiten); (2) pruebas de mutaciones del gen JAK2 (que ocurren en aproximadamente el 50 % de los casos) o MPL (que ocurren en hasta el 5 % de los casos); (3) biopsias de médula ósea para buscar signos clásicos de TE, incluido un aumento de precursores de plaquetas. Se puede encontrar más información relacionada con el diagnóstico de TE en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE. UU. N.º 2006/0166221.

La TE generalmente se trata mediante el uso de: la modificación de los factores de riesgo cardiovascular, la terapia antiplaquetaria y la terapia citorreductora (Beer, et al., Blood 117(5): 1472-1482; en adelante (Beer et al., 2010). Con respecto a los factores de riesgo cardiovascular, los pacientes se someten a pruebas de detección de hipertensión, diabetes, tabaquismo, hipercolesterolemia y obesidad, y se los trata donde se indique según las pautas adecuadas para esas afecciones (Beer et al., 2010). La terapia antiplaquetaria incluye, pero no se limita a: aspirina a menos que esté contraindicada y agentes antiplaquetarios como el clopidogrel. Los pacientes con TE pueden estratificarse en función del riesgo trombótico; los pacientes de alto riesgo son mayores de 60 años, tienen acontecimientos trombóticos previos o un recuento de plaquetas mayor que  $1500 \times 10^9 /l$ ; es probable que estos pacientes de alto riesgo se beneficien de la terapia citorreductora (Beer et al., 2010).

A pesar de un posible mayor riesgo de transformación leucémica cuando los pacientes con ET son tratados con hidroxycarbamida (hidroxiurea), sigue siendo la terapia de primera línea para la mayoría de los pacientes que requieren tratamiento (Beer et al, 2010). Otros tratamientos incluyen, entre otros, interferón, anagrelida, pipobromano, busulfano e irradiación con fósforo radiactivo.

El tratamiento farmacológico actual contra la TE no es curativo y hay poca evidencia que sugiera un efecto favorable sobre la supervivencia. Ninguna de estas estrategias actuales aborda o se dirige directamente a las células clónicas malignas responsables de la enfermedad, la evolución de la enfermedad o los síntomas que sufren los pacientes que afectan a la calidad de vida. El objetivo del tratamiento actual en la TE es prevenir complicaciones trombohemorrágicas. El progreso importante en elucidar la patogénesis de la TE se realizó con la descripción, en 2005, de la mutación somática JAK2 (V617F), que está presente en el 50-60 % de los pacientes con TE (James, et al. (2005) Nature 434: 1144-1148; Kralovics, et al. (2005) N Engl J Med 352: 1779-90; Baxter, et al. (2005) Lancet 365: 1054-61; Levine, et al. (2005) Cancer Cell 7: 387-97). Además de la presencia y la carga alélica de la mutación JAK2/V617F, la leucocitosis basal se ha reconocido recientemente como un nuevo factor de riesgo relacionado con la enfermedad en la TE (Ziakas PD. (2008) Haematologica 93: 1412-1414; Carobbio et al., (2007) Blood 109: 2310-2313). La evidencia también indica que la leucocitosis tiene un significado pronóstico y puede considerarse causante de acontecimientos vasculares (Barbui, et al., (2009) Blood 114: 759-63).

### B. Policitemia Vera

Los pacientes con policitemia vera (PV) tienen un marcado aumento de la producción de glóbulos rojos. El tratamiento está dirigido a reducir el número excesivo de glóbulos rojos. La PV puede desarrollar una fase tardía en su curso que se asemeja a la mielofibrosis primaria con citopenias e hipoplasia y fibrosis de la médula. La mutación del gen Janus Kinase 2 (JAK2) en el cromosoma 9 que causa una mayor proliferación y supervivencia de los precursores

hematopoyéticos *in vitro* se ha identificado en la mayoría de los pacientes con PV. Los pacientes con PV tienen un mayor riesgo de acontecimientos cardiovasculares y trombóticos y de transformación a leucemia mielógena aguda o mielofibrosis primaria. El tratamiento contra la PV incluye flebotomía crónica intermitente para mantener el hematocrito por debajo del 45 % en hombres y 40 % en mujeres. Otros posibles tratamientos incluyen la hidroxiurea, el interferón alfa y la aspirina en dosis bajas.

### C. Mielofibrosis

La mielofibrosis o MF es una neoplasia mieloproliferativa en el mismo espectro de enfermedades que la TE. Los pacientes con MF a menudo portan la mutación JAK2 V617F en su médula ósea. Ocasionalmente, la TE evoluciona a MF. La inhibición de JAK2 se considera actualmente un tratamiento de referencia para la MF en países donde se aprueba el ruxolitinib (Jakafi®), un inhibidor de la janus quinasa. No hay evidencia de que los inhibidores de JAK2, como Jakafi®, inhiban selectivamente la proliferación del clon leucémico responsable de la enfermedad y, por lo tanto, no pueden "modificar la enfermedad".

### D. Leucemia mielógena aguda

La leucemia mielógena aguda (LMA) es un cáncer de la línea mieloide de las células sanguíneas. La LMA es la leucemia aguda más común que afecta a los adultos. Los pacientes con LMA tienen un rápido crecimiento de glóbulos blancos anormales que se acumulan en la médula ósea e interfieren con la producción de células sanguíneas normales. El reemplazo de la médula ósea normal con células leucémicas provoca una caída en los glóbulos rojos, las plaquetas y los glóbulos blancos normales. Los síntomas de la LMA incluyen cansancio, dificultad para respirar, hematomas y sangrado fáciles y un mayor riesgo de infección. Como una leucemia aguda, la LMA progresa rápidamente y generalmente es mortal en semanas o meses si no se trata. El tratamiento de referencia para la LMA es el tratamiento con quimioterapia destinado a inducir una remisión; los pacientes pueden recibir un trasplante de células madre hematopoyéticas.

### E. Síndrome mielodisplásico

Un síndrome mielodisplásico (SMD) es un grupo de síntomas que incluye cáncer de la sangre y la médula ósea. Las células madre sanguíneas inmaduras (blastos) no se convierten en glóbulos rojos, glóbulos blancos o plaquetas sanas. El blasto muere en la médula ósea o poco después de viajar a la sangre. Esto deja menos espacio para que se formen glóbulos blancos, glóbulos rojos y/o plaquetas sanas en la médula ósea.

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son una colección de afecciones médicas hematológicas que implican la producción ineficaz de la clase mieloide de células sanguíneas. Los pacientes con SMD a menudo desarrollan anemia severa y requieren transfusiones de sangre frecuentes. En algunos casos, la enfermedad empeora y el paciente desarrolla citopenias (recuentos sanguíneos bajos) causadas por insuficiencia progresiva de la médula ósea. En algunos casos, la enfermedad se transforma en leucemia mielógena aguda (AML). Si el porcentaje general de mieloblastos de médula ósea aumenta en un límite particular (20 % para la OMS y 30 % para la FAB), entonces se dice que se produce la transformación a leucemia mielógena aguda (LMA).

### F. Procedimientos para tratar la NMP o el SMD utilizando inhibidores de la telomerasa

En este documento se describen procedimientos para reducir la proliferación de células progenitoras neoplásicas y aliviar los síntomas asociados en individuos diagnosticados o que se cree que tienen NMP o SMD mediante la administración de inhibidores de la telomerasa (como cualquiera de los inhibidores de la telomerasa descritos en este documento).

Los procedimientos se pueden practicar en un entorno adyuvante. «Entorno adyuvante» se refiere a un entorno clínico en el que un individuo ha tenido antecedentes de una enfermedad proliferativa y, en general (pero no necesariamente) ha respondido a la terapia, que incluye, entre otros, cirugía (como la resección quirúrgica), radioterapia y quimioterapia. Sin embargo, debido a su historia de la enfermedad proliferativa, estos individuos se consideran en riesgo de desarrollar la enfermedad. El tratamiento o administración en el "entorno adyuvante" se refiere a un modo posterior de tratamiento. El grado de riesgo (es decir, cuando un individuo en el entorno adyuvante se considera "alto riesgo" o "bajo riesgo") depende de varios factores, generalmente de la extensión de la enfermedad cuando se trata por primera vez.

Los procedimientos descritos en el presente documento también se pueden practicar en un "entorno neoadyuvante", es decir, el procedimiento se puede llevar a cabo antes del tratamiento primario/definitivo. En algunos casos, el individuo ha sido tratado previamente. En algunos casos, el individuo no ha sido tratado previamente. En algunos casos, el tratamiento es un tratamiento de primera línea.

### 1. **Procedimientos para aliviar los síntomas de las neoplasias mieloproliferativas y los síndromes mielodisplásicos**

La presente descripción describe procedimientos para inhibir los síntomas o afecciones (discapacidades, impedimentos) asociados con neoplasias mieloproliferativas como se describe en detalle anteriormente. Como tal, no se requiere que todos los efectos de la afección se prevengan o reviertan por completo, aunque los efectos de los procedimientos descritos actualmente probablemente se extiendan a un beneficio terapéutico importante para el paciente. Como tal, un beneficio terapéutico no es necesariamente una prevención o cura completa para una afección particular resultante de la neoplasia mieloproliferativa, sino que puede abarcar un resultado que incluye reducir o prevenir los síntomas que resultan de un trastorno proliferativo celular, reducir o prevenir la aparición de tales síntomas (ya sea cuantitativa o cualitativamente), reducir la gravedad de dichos síntomas o sus efectos fisiológicos y/o mejorar la recuperación del individuo después de experimentar síntomas de neoplasia mieloproliferativa.

La presente descripción describe procedimientos para inhibir los síntomas o afecciones (discapacidades, impedimentos) asociados con el síndrome mielodisplásico (SMD) como se describe en detalle anteriormente. Como tal, no se requiere que todos los efectos de la afección se prevengan o reviertan por completo, aunque los efectos de los procedimientos descritos actualmente probablemente se extiendan a un beneficio terapéutico importante para el paciente. Como tal, un beneficio terapéutico no es necesariamente una prevención o cura completa para una afección particular resultante del síndrome mielodisplásico, sino que puede abarcar un resultado que incluye reducir o prevenir los síntomas que resultan de un trastorno proliferativo celular, reducir o prevenir la aparición de tales síntomas (ya sea cuantitativa o cualitativamente), reducir la gravedad de dichos síntomas o sus efectos fisiológicos y/o mejorar la recuperación del individuo después de experimentar síntomas de síndrome mielodisplásico.

Como se usa en este documento, la frase "aliviar al menos un síntoma asociado con" un trastorno, enfermedad o afección (como NMP o SMD) denota la reversión, la inhibición del progreso o la prevención del trastorno o afección a la que se aplica dicho término, o revertir, inhibir el progreso o prevenir uno o más síntomas del trastorno o afección a la que se aplica dicho término. Específicamente, una composición (como cualquiera de los compuestos inhibidores de la telomerasa descritos en la presente invención), cuando se administra a un individuo, puede tratar o prevenir uno o más de los síntomas o afecciones asociados con NMP o SMD y/o reducir o aliviar síntomas o afecciones asociados con este trastorno. Como tal, proteger a un individuo contra los efectos o síntomas resultantes de la NMP o SMD incluye tanto prevenir o reducir la ocurrencia y/o gravedad de los efectos del trastorno y tratar a un paciente en el que los efectos del trastorno ya están ocurriendo o comienzan a ocurrir. Un experto en la materia y/o un médico capacitado que esté tratando al paciente puede evaluar fácilmente un efecto beneficioso. Preferiblemente, existe una diferencia positiva o beneficiosa en la severidad u ocurrencia de al menos una puntuación, valor o medida clínica o biológica utilizada para evaluar a dichos pacientes en aquellos que han sido tratados con los procedimientos de la presente descripción en comparación con aquellos que no lo han sido.

De acuerdo con esto, se describen en el presente documento procedimientos para aliviar al menos un síntoma asociado con NMP o SMD en un individuo que lo necesita, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de telomerasa alivia al menos un síntoma asociado con NMP o SMD. En algunos casos, el síntoma comprende dolor de cabeza, mareos o aturdimiento, dolor en el pecho, debilidad, desmayos, cambios en la visión, entumecimiento u hormigueo en las extremidades, enrojecimiento, dolor punzante o ardiente en las extremidades (eritromelalgia), esplenomegalia, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de boca o encías, melena, ataque cardíaco (infarto de miocardio) o accidente cerebrovascular. En algunos casos, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido que puede ser complementario al componente de ARN de la telomerasa y en algunos casos puede tener una longitud de entre 10 y 20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En otros casos, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N<sup>3</sup>'<sup>AP</sup>5'. El oligonucleótido también puede conjugarse con un resto lipídico en su extremo 5' o 3', opcionalmente a través de un conector (tal como un conector de glicerol o amino glicerol). En algunos casos, el resto lipídico es un resto palmitoilo (C16). En otro caso más, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En otros casos, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de citocinas. En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En aún otros casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción de la carga alélica de JAK2 V617F. En algunos casos, el individuo puede ser resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa (que incluye, entre otros, hidroxiurea, anagrelida o interferón a-2B). En otra realización, el individuo es un humano.

En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa administrado al paciente es de 7,5 mg/kg a

9,3 mg/kg. En otros casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En otro caso, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos descritos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa incluye al menos una de 6,5 mg/kg, 6,6 mg/kg, 6,7 mg/kg, 6,8 mg/kg, 6,9 mg/kg, 7 mg/kg, 7,1 mg/kg, 7,2 mg/kg, 7,3 mg/kg, 7,4 mg/kg, 7,5 mg/kg, 7,6 mg/kg, 7,7 mg/kg, 7,8 mg/kg, 7,9 mg/kg, 8 mg/kg, 8,1 mg/kg, 8,2 mg/kg, 8,3 mg/kg, 8,4 mg/kg, 8,5 mg/kg, 8,6 mg/kg, 8,7 mg/kg, 8,8 mg/kg, 8,9 mg/kg, 9 mg/kg, 9,1 mg/kg, 9,2 mg/kg, 9,3 mg/kg, 9,4 mg/kg, 9,5

mg/kg, 9,6 mg/kg, 9,7 mg/kg, 9,8 mg/kg, 9,9 mg/kg, 10 mg/kg, 10,1 mg/kg, 10,2 mg/kg, 10,3 mg/kg, 10,4 mg/kg, 10,5 mg/kg, 10,6 mg/kg, 10,7 mg/kg, 10,8 mg/kg, 10,9 mg/kg, 11 mg/kg, 11,1 mg/kg, 11,2 mg/kg, 11,3 mg/kg, 11,4 mg/kg, 11,5 mg/kg, 11,6 mg/kg, 11,7 mg/kg, 11,8 mg/kg, 11,9 mg/kg, 12 mg/kg, 12,1 mg/kg, 12,2 mg/kg, 12,3 mg/kg, 12,4 mg/kg, 12,5 mg/kg, 12,6 mg/kg, 12,7 mg/kg, 12,8 mg/kg, 12,9 mg/kg, o 13 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa administrado al individuo no es de 9,4 mg/kg.

En algunos casos, el individuo diagnosticado con o que se cree que tiene NMP porta una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). Los procedimientos para determinar si un individuo porta esta mutación, así como para determinar la carga alélica, son muchos y bien conocidos en la técnica (véanse, por ejemplo, las solicitudes de patente de EE. UU. N.º 2009/0162849, 2007/0224598 y 2009/0162849. En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo.

## 2. Procedimientos para reducir la proliferación celular neoplásica

Se describen en el presente documento procedimientos para reducir la proliferación de células progenitoras neoplásicas en un individuo diagnosticado o con sospecha de trombocitemia esencial, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de la telomerasa al individuo, en donde la administración del inhibidor de la telomerasa reduce la proliferación de células progenitoras neoplásicas en el individuo. En algunos casos, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido que puede ser complementario al componente de ARN de la telomerasa y en algunos casos puede tener una longitud de entre 10 y 20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En otros casos, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'AP5'. El oligonucleótido también puede conjugarse con un resto lipídico en su extremo 5' o 3', opcionalmente a través de un conector (tal como un conector de glicerol o amino glicerol). En algunos casos, el resto lipídico es un resto palmitoilo (C16). En otro caso más, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En otros casos, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de citocinas. En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En aún otros casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción de la carga alélica de JAK2 V617F. En algunos casos, el individuo puede ser resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa (que incluye, entre otros, hidroxiurea, anagrelida o interferón  $\alpha$ -2B). En otro caso, el individuo es un humano.

En algunos casos, la reducción de la proliferación de células progenitoras neoplásicas produce recuentos de plaquetas inferiores a cualquiera de aproximadamente  $600 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $575 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $550 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $525 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $500 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $475 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $450 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $425 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $375 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $350 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $325 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $300 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $275 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $250 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $225 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $200 \times 10^3 /\mu\text{l}$ ,  $175 \times 10^3 /\mu\text{l}$ , o  $150 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre del individuo, incluidos los valores entre estos números. En otros casos, la proliferación celular neoplásica reducida da como resultado un recuento reducido de plaquetas (como cualquiera de los recuentos de plaquetas descritos anteriormente) en la sangre del individuo en cualquiera de aproximadamente 24 semanas, 23 semanas, 22 semanas, 21 semanas, 20 semanas, 19 semanas, 18 semanas, 17 semanas, 16 semanas, 15 semanas, 14 semanas, 13 semanas, 12 semanas, 11 semanas, 10 semanas, 9 semanas, 8 semanas, 7 semanas, 6 semanas, 5 semanas, 4 semanas, 3 semanas o 2 semanas o menos después del inicio de la administración del inhibidor de la telomerasa.

En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En otros casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En otro caso, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa incluye al menos aproximadamente 6,5 mg/kg, 6,6 mg/kg, 6,7 mg/kg, 6,8 mg/kg, 6,9 mg/kg, 7 mg/kg, 7,1 mg/kg, 7,2 mg/kg, 7,3 mg/kg, 7,4 mg/kg, 7,5 mg/kg, 7,6 mg/kg, 7,7 mg/kg, 7,8 mg/kg, 7,9 mg/kg, 8 mg/kg, 8,1 mg/kg, 8,2 mg/kg, 8,3 mg/kg, 8,4 mg/kg, 8,5 mg/kg, 8,6 mg/kg, 8,7 mg/kg, 8,8 mg/kg, 8,9 mg/kg, 9 mg/kg, 9,1 mg/kg, 9,2 mg/kg, 9,3 mg/kg, 9,4 mg/kg, 9,5 mg/kg, 9,6 mg/kg, 9,7 mg/kg, 9,8 mg/kg, 9,9 mg/kg, 10 mg/kg, 10,1 mg/kg, 10,2 mg/kg, 10,3 mg/kg, 10,4 mg/kg, 10,5 mg/kg, 10,6 mg/kg, 10,7 mg/kg, 10,8 mg/kg, 10,9 mg/kg, 11 mg/kg, 11,1 mg/kg, 11,2 mg/kg, 11,3 mg/kg, 11,4 mg/kg, 11,5 mg/kg, 11,6 mg/kg, 11,7 mg/kg, 11,8 mg/kg, 11,9 mg/kg, 12 mg/kg, 12,1 mg/kg, 12,2 mg/kg, 12,3 mg/kg, 12,4 mg/kg, 12,5 mg/kg, 12,6 mg/kg, 12,7 mg/kg, 12,8 mg/kg, 12,9 mg/kg o 13 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa administrado al individuo no es de 9,4 mg/kg.

En algunos casos, el individuo diagnosticado con o que se cree que tiene TE porta una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo.

## 3. Procedimientos para mantener niveles normales de plaquetas circulantes

También se describe en el presente documento un procedimiento para mantener recuentos de plaquetas en sangre

entre menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 / \mu\text{l}$  en la sangre de un individuo diagnosticado o con sospecha de trombocitemia esencial, el procedimiento comprende: administrar una cantidad clínicamente efectiva de un inhibidor de la telomerasa al individuo, donde la administración del inhibidor de la telomerasa mantiene el recuento de plaquetas en sangre de menos de aproximadamente  $400 \times 10^3 / \mu\text{l}$  en el individuo. En algunos casos, el inhibidor de la telomerasa comprende un oligonucleótido que puede ser complementario al componente de ARN de la telomerasa y en algunos casos puede tener una longitud de entre 10 y 20 pares de bases. En algunos casos, el oligonucleótido comprende la secuencia TAGGGTTAGACAA. En otros casos, el oligonucleótido comprende enlaces internucleosídicos de tiofosforamidato N3'P5'. El oligonucleótido también puede conjugarse con un resto lipídico en su extremo 5' o 3', opcionalmente a través de un conector (tal como un conector de glicerol o amino glicerol). En algunos casos, el resto lipídico es un resto palmitoilo (C16). En otro caso más, el inhibidor de la telomerasa es imetelstat. En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependiente de citocinas. En otros casos, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de citocinas. En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa inhibe UFC-mega. En aún otros casos, la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción de la carga alélica de JAK2 V617F. En algunos casos, el individuo puede ser resistente o intolerante a una terapia previa sin inhibidores de la telomerasa (que incluye, entre otros, hidroxiurea, anagrelida o interferón  $\alpha$ -2B). En otro caso, el individuo es un humano.

En algunos casos, la administración de los inhibidores de la telomerasa (como cualquiera de los inhibidores de la telomerasa aquí descritos) mantiene el recuento de plaquetas a niveles fisiológicamente normales. En algunos casos, la administración de los inhibidores de la telomerasa mantiene un recuento de plaquetas inferior a cualquiera de aproximadamente  $600 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $575 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $550 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $525 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $500 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $475 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $450 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $425 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $400 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $375 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $350 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $325 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $300 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $275 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $250 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $225 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $200 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $175 \times 10^3 / \mu\text{l}$ , o  $150 \times 10^3 / \mu\text{l}$  en la sangre del individuo, incluidos los valores entre estos números. En otros casos, la administración de los inhibidores de la telomerasa mantiene el recuento de plaquetas entre aproximadamente  $100\text{-}400 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $150\text{-}200 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $150\text{-}250 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $150\text{-}300 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $150\text{-}350 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $150\text{-}400 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $200\text{-}250 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $200\text{-}300 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $200\text{-}350 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $200\text{-}400 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $250\text{-}300 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $250\text{-}350 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $250\text{-}400 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $300\text{-}350 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ,  $300\text{-}400 \times 10^3 / \mu\text{l}$ , o  $350$  a  $400 \times 10^3 / \mu\text{l}$  en la sangre del individuo.

En otros casos, mantener el recuento de plaquetas en sangre a niveles fisiológicamente normales requiere la administración del inhibidor de la telomerasa no más de una vez al día, cada dos días, cada tres días, cada semana, cada 11 días, cada dos semanas, cada tres semanas, cada mes, cada seis semanas, cada dos meses o más, incluidos los períodos de tiempo entre estos.

En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En otros casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En otro caso, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa incluye al menos aproximadamente 6,5 mg/kg, 6,6 mg/kg, 6,7 mg/kg, 6,8 mg/kg, 6,9 mg/kg, 7 mg/kg, 7,1 mg/kg, 7,2 mg/kg,

7,3 mg/kg, 7,4 mg/kg, 7,5 mg/kg, 7,6 mg/kg, 7,7 mg/kg, 7,8 mg/kg, 7,9 mg/kg, 8 mg/kg, 8,1 mg/kg, 8,2 mg/kg, 8,3 mg/kg, 8,4 mg/kg, 8,5 mg/kg, 8,6 mg/kg, 8,7 mg/kg, 8,8 mg/kg, 8,9 mg/kg, 9 mg/kg, 9,1 mg/kg, 9,2 mg/kg, 9,3 mg/kg, 9,4 mg/kg, 9,5 mg/kg, 9,6 mg/kg, 9,7 mg/kg, 9,8 mg/kg, 9,9 mg/kg, 10 mg/kg, 10,1 mg/kg, 10,2 mg/kg, 10,3 mg/kg, 10,4 mg/kg, 10,5 mg/kg, 10,6 mg/kg, 10,7 mg/kg, 10,8 mg/kg, 10,9 mg/kg, 11 mg/kg, 11,1 mg/kg, 11,2 mg/kg, 11,3 mg/kg, 11,4 mg/kg, 11,5 mg/kg, 11,6 mg/kg, 11,7 mg/kg, 11,8 mg/kg, 11,9 mg/kg, 12 mg/kg, 12,1 mg/kg, 12,2 mg/kg, 12,3 mg/kg, 12,4 mg/kg, 12,5 mg/kg, 12,6 mg/kg, 12,7 mg/kg, 12,8 mg/kg, 12,9 mg/kg, o 13 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa administrado al individuo no es de 9,4 mg/kg.

En algunos casos, el individuo diagnosticado con o que se cree que tiene TE porta una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2). En algunos casos, la administración del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo.

#### G. Administración de inhibidores de la telomerasa

En algunos casos, el inhibidor de la telomerasa (como cualquiera de los compuestos inhibidores de la telomerasa descritos aquí) se administra en forma de inyección. La inyección puede comprender el compuesto en combinación con un excipiente o vehículo inyectable acuoso. Los ejemplos no limitantes de excipientes o vehículos inyectables acuosos adecuados son bien conocidos por los expertos en la materia, y ellos, y los procedimientos para formular las formulaciones, se pueden encontrar en referencias estándar tales como Alfonso AR: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton Pa., 1985. Los excipientes o vehículos inyectables acuosos adecuados incluyen agua, solución salina acuosa, solución acuosa de dextrosa y similares, que opcionalmente contienen potenciadores de la disolución, como manitol al 10 % u otros azúcares, glicina al 10 % u otros aminoácidos. La composición puede inyectarse por vía subcutánea, intraperitoneal o intravenosa.

En algunos casos, se usa la administración intravenosa, y puede ser una infusión intravenosa continua durante un período de unos minutos a una hora o más, como alrededor de quince minutos. La cantidad administrada puede variar ampliamente según el tipo de inhibidor de la telomerasa, el tamaño de una dosis unitaria, el tipo de excipientes o

vehículos y otros factores bien conocidos por los expertos en la técnica. El inhibidor de la telomerasa puede comprender, por ejemplo, de aproximadamente un 0,001 % a aproximadamente un 10 % (p/p), de aproximadamente un 0,01 % a aproximadamente un 1 %, de aproximadamente un 0,1 % a aproximadamente un 0,8 %, o cualquier intervalo en los mismos, con el resto que comprende los excipientes o vehículos.

5 Para la administración por vía oral, el inhibidor de la telomerasa puede tomar la forma de, por ejemplo, comprimidos o cápsulas preparadas por medios convencionales con excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables tales como sustancias aglutinantes; rellenos lubricantes; desintegrantes; o sustancias humectantes. Las preparaciones  
10 líquidas para administración por vía oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, disoluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden prepararse por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente  
15 aceptables tales como sustancias de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); sustancias emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales tampón, saborizantes y colorantes, según corresponda.

En algunos casos, el inhibidor de la telomerasa se puede administrar por inhalación a través de un aerosol o un nebulizador que puede incluir un propulsor adecuado como, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano,  
20 diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono o una combinación de los mismos. En un ejemplo no limitativo, una unidad de dosificación para un aerosol presurizado puede administrarse a través de una válvula dosificadora. En otro caso, las cápsulas y cartuchos de gelatina, por ejemplo, se pueden usar en un inhalador y se pueden formular para contener una mezcla pulverizada del compuesto con una base en polvo adecuada, como, por ejemplo, almidón o lactosa.

En algunos casos, la cantidad de inhibidor de la telomerasa administrada al individuo se incluye en cualquiera de los  
25 siguientes intervalos: de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 mg, de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 20 a aproximadamente 25 mg, de aproximadamente 25 a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 50 a aproximadamente 75 mg, de  
30 aproximadamente 75 a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 100 a aproximadamente 125 mg, de aproximadamente 125 a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 150 a aproximadamente 175 mg, de aproximadamente 175 a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 200 a aproximadamente 225 mg, de aproximadamente 225 a aproximadamente 250 mg, de aproximadamente 250 a aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 300 a aproximadamente 350 mg, de  
35 aproximadamente 350 a aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 400 a aproximadamente 450 mg, o de aproximadamente 450 a aproximadamente 500 mg. En algunos casos, la cantidad de un inhibidor de la telomerasa en la cantidad efectiva administrada al individuo (por ejemplo, una forma de dosificación unitaria) está en el rango de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg, tal como de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 300 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 200 mg. En algunos casos, la concentración del inhibidor de la  
40 telomerasa administrada al individuo está diluida (aproximadamente 0,1 mg/ml) o concentrada (aproximadamente 180 mg/ml), incluida por ejemplo cualquiera de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 200 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 180 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 160 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 140 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 120 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 80 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 60 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 2 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 4 a aproximadamente 35 mg/ml, de aproximadamente 6 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 8 a aproximadamente 25 mg/ml, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 12 a aproximadamente 15 mg/ml, o cualquiera de aproximadamente 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,7 mg/ml, 0,8 mg/ml, 0,9 mg/ml, 1 mg/ml, 1,1 mg/ml, 1,2 mg/ml, 1,3 mg/ml, 1,4 mg/ml, 1,5 mg/ml, 1,6 mg/ml, 1,7 mg/ml, 1,8 mg/ml, 1,9 mg/ml, 2 mg/ml, 2,1 mg/ml, 2,2 mg/ml, 2,3 mg/ml, 2,4 mg/ml, o 2,5 mg/ml. En algunos casos, la concentración del inhibidor de la telomerasa es al menos de aproximadamente 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,5 mg/ml, 1,3 mg/ml, 1,5 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml, 5 mg/ml, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8 mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 11 mg/ml, 12 mg/ml, 13 mg/ml, 14 mg/ml, 15 mg/ml, 16 mg/ml, 17 mg/ml, 18 mg/ml, 19 mg/ml, 20 mg/ml, 21 mg/ml, 22 mg/ml, 23 mg/ml, 24 mg/ml, 25 mg/ml, 26 mg/ml, 27 mg/ml, 28 mg/ml, 29 mg/ml, 30 mg/ml, 31 mg/ml, 32 mg/ml, 33 mg/ml, 33,3 mg/ml, 34 mg/ml, 35 mg/ml, 36 mg/ml, 37 mg/ml, 38 mg/ml, 39 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml, 90 mg/ml, 100 mg/ml, 110 mg/ml, 120 mg/ml, 130 mg/ml, 140 mg/ml, 150 mg/ml, 160 mg/ml, 170 mg/ml, 180 mg/ml, 190 mg/ml, 200 mg/ml, 210 mg/ml, 220 mg/ml, 230 mg/ml, 240 mg/ml, o 250 mg/ml.

Las cantidades efectivas ejemplares de un inhibidor de la telomerasa administrado al individuo incluyen, pero no se limitan a, al menos aproximadamente 25 mg/m<sup>2</sup>, 30 mg/m<sup>2</sup>, 50 mg/m<sup>2</sup>, 60 mg/m<sup>2</sup>, 75 mg/m<sup>2</sup>, 80 mg/m<sup>2</sup>, 90 mg/m<sup>2</sup>, 100 mg/m<sup>2</sup>, 120 mg/m<sup>2</sup>, 125 mg/m<sup>2</sup>, 150 mg/m<sup>2</sup>, 160 mg/m<sup>2</sup>, 175 mg/m<sup>2</sup>, 180 mg/m<sup>2</sup>, 200 mg/m<sup>2</sup>, 210 mg/m<sup>2</sup>, 220 mg/m<sup>2</sup>, 250 mg/m<sup>2</sup>, 260 mg/m<sup>2</sup>, 300 mg/m<sup>2</sup>, 350 mg/m<sup>2</sup>, 400 mg/m<sup>2</sup>, 500 mg/m<sup>2</sup>, 540 mg/m<sup>2</sup>, 750 mg/m<sup>2</sup>, 1000 mg/m<sup>2</sup>, o 1080 mg/m<sup>2</sup>. En varios casos, la cantidad de inhibidor de la telomerasa administrada al individuo incluye menos de  
65 aproximadamente 350 mg/m<sup>2</sup>, 300 mg/m<sup>2</sup>, 250 mg/m<sup>2</sup>, 200 mg/m<sup>2</sup>, 150 mg/m<sup>2</sup>, 120 mg/m<sup>2</sup>, 100 mg/m<sup>2</sup>, 90 mg/m<sup>2</sup>, 50

mg/m<sup>2</sup> o 30 mg/m<sup>2</sup> de un inhibidor de la telomerasa. En algunos casos, la cantidad de inhibidor de la telomerasa por administración es inferior a aproximadamente 25 mg/m<sup>2</sup>, 22 mg/m<sup>2</sup>, 20 mg/m<sup>2</sup>, 18 mg/m<sup>2</sup>, 15 mg/m<sup>2</sup>, 14 mg/m<sup>2</sup>, 13 mg/m<sup>2</sup>, 12 mg/m<sup>2</sup>, 11 mg/m<sup>2</sup>, 10 mg/m<sup>2</sup>, 9 mg/m<sup>2</sup>, 8 mg/m<sup>2</sup>, 7 mg/m<sup>2</sup>, 6 mg/m<sup>2</sup>, 5 mg/m<sup>2</sup>, 4 mg/m<sup>2</sup>, 3 mg/m<sup>2</sup>, 2 mg/m<sup>2</sup>, o 1 mg/m<sup>2</sup>. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa administrada al individuo se incluye en cualquiera de los siguientes rangos: de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 25 a aproximadamente 50 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 50 a aproximadamente 75 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 75 a aproximadamente 100 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 100 a aproximadamente 125 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 125 a aproximadamente 150 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 150 a aproximadamente 175 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 175 a aproximadamente 200 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 200 a aproximadamente 225 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 225 a aproximadamente 250 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 250 a aproximadamente 300 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 300 a aproximadamente 350 mg/m<sup>2</sup> o de aproximadamente 350 a aproximadamente 400 mg/m<sup>2</sup>. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa administrado al individuo es de aproximadamente 5 a aproximadamente 300 mg/m<sup>2</sup>, tal como de aproximadamente 20 a aproximadamente 300 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 50 a aproximadamente 250 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 mg/m<sup>2</sup>, de aproximadamente 120 mg/m<sup>2</sup>, aproximadamente 130 mg/m<sup>2</sup> o de aproximadamente 140 mg/m<sup>2</sup> de aproximadamente 260 mg/m<sup>2</sup>.

En algunos casos de cualquiera de las descripciones anteriores, la cantidad efectiva de un inhibidor de telomerasa administrado al individuo incluye al menos aproximadamente cualquiera de 1 mg/kg, 2,5 mg/kg, 3,5 mg/kg, 5 mg/kg, 6,5 mg/kg, 7,5 mg/kg, 9,4 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg o 20 mg/kg. En varios casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa administrado al individuo incluye menos de aproximadamente 350 mg/kg, 300 mg/kg, 250 mg/kg, 200 mg/kg, 150 mg/kg, 100 mg/kg, 50 mg/kg, 30 mg/kg, 25 mg/kg, 20 mg/kg, 10 mg/kg, 7,5 mg/kg, 6,5 mg/kg, 5 mg/kg, 3,5 mg/kg, 2,5 mg/kg, o 1 mg/kg de un inhibidor de la telomerasa. En otros casos de cualquiera de las descripciones anteriores, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa administrado al individuo incluye al menos aproximadamente cualquiera de 6,5 mg/kg, 6,6 mg/kg, 6,7 mg/kg, 6,8 mg/kg, 6,9 mg/kg, 7 mg/kg, 7,1 mg/kg, 7,2 mg/kg, 7,3 mg/kg, 7,4 mg/kg, 7,5 mg/kg, 7,6 mg/kg, 7,7 mg/kg, 7,8 mg/kg, 7,9 mg/kg, 8 mg/kg, 8,1 mg/kg, 8,2 mg/kg, 8,3 mg/kg, 8,4 mg/kg, 8,5 mg/kg, 8,6 mg/kg, 8,7 mg/kg, 8,8 mg/kg, 8,9 mg/kg, 9 mg/kg, 9,1 mg/kg, 9,2 mg/kg, 9,3 mg/kg, 9,4 mg/kg, 9,5 mg/kg, 9,6 mg/kg, 9,7 mg/kg, 9,8 mg/kg, 9,9 mg/kg, 10 mg/kg, 10,1 mg/kg, 10,2 mg/kg, 10,3 mg/kg, 10,4 mg/kg, 10,5 mg/kg, 10,6 mg/kg, 10,7 mg/kg, 10,8 mg/kg, 10,9 mg/kg, 11 mg/kg, 11,1 mg/kg, 11,2 mg/kg, 11,3 mg/kg, 11,4 mg/kg, 11,5 mg/kg, 11,6 mg/kg, 11,7 mg/kg, 11,8 mg/kg, 11,9 mg/kg, 12 mg/kg, 12,1 mg/kg, 12,2 mg/kg, 12,3 mg/kg, 12,4 mg/kg, 12,5 mg/kg, 12,6 mg/kg, 12,7 mg/kg, 12,8 mg/kg, 12,9 mg/kg o 13 mg/kg. En algunos casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa administrado al individuo no es de 9,4 mg/kg. En otros casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de telomerasa administrado al individuo es de 7,5 mg/kg a 9,3 mg/kg. En otro caso, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En todavía otros casos, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos descritos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg. En algunos casos descritos en el presente documento, la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg.

Las frecuencias de dosificación ejemplares para las composiciones farmacéuticas (tales como una composición farmacéutica que contiene cualquiera de los inhibidores de la telomerasa descritos en el presente documento) incluyen, pero no se limitan a, diariamente; cualquier otro día; dos veces a la semana; tres veces por semana; semanalmente sin descanso; semanalmente, tres de cuatro semanas; una vez cada tres semanas; una vez cada dos semanas; semanalmente, dos de cada tres semanas. En algunos casos, la composición farmacéutica se administra aproximadamente una vez por semana, una vez cada 2 semanas, una vez cada 3 semanas, una vez cada 4 semanas, una vez cada 6 semanas o una vez cada 8 semanas. En algunos casos, la composición se administra al menos sobre cualquiera de 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x o 7x (es decir, diariamente) una semana o tres veces al día, dos veces al día. En algunos casos, los intervalos entre cada administración son inferiores a aproximadamente 6 meses, 3 meses, 1 mes, 20 días, 15 días, 12 días, 10 días, 9 días, 8 días, 7 días, 6 días, 5 días, 4 días, 3 días, 2 días o 1 día. En algunos casos, los intervalos entre cada administración son más de aproximadamente 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 8 meses o 12 meses. En algunos casos, no hay interrupción en el horario de dosificación. En algunos casos, el intervalo entre cada administración no es más de aproximadamente una semana.

En otros casos, la composición farmacéutica (como una composición farmacéutica que contiene cualquiera de los inhibidores de la telomerasa descritos aquí) se administra para mantener recuentos de plaquetas en sangre de entre aproximadamente  $150 \times 10^3 /\mu\text{l}$  a  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre de un individuo diagnosticado con o que se sospecha que presenta trombocitemia esencial. En estas condiciones, los intervalos entre cada administración pueden ser semanales, cada 2 semanas, cada 3 semanas o cada 4 semanas o más. En algunos casos, los intervalos para la administración del inhibidor de la telomerasa se pueden disminuir con el tiempo si el recuento de plaquetas en el individuo permanece  $<400 \times 10^3 /\mu\text{l}$  en la sangre del individuo. En algunos casos, se proporciona un procedimiento para determinar la frecuencia de administración del inhibidor de la telomerasa para el tratamiento de la TE que comprende a) medir el recuento de plaquetas en la sangre de un individuo por cualquier medio conocido en la técnica y b) administrar el inhibidor de la telomerasa si los recuentos de plaquetas en el individuo son mayores de  $400 \times 10^3 /\mu\text{l}$ .

La administración de la composición farmacéutica (tal como una composición farmacéutica que contiene cualquiera de los inhibidores de telomerasa descritos en este documento) puede extenderse durante un período prolongado de

tiempo (tal como durante la terapia de mantenimiento), tal como desde aproximadamente un mes hasta aproximadamente siete años. En algunos casos, la composición se administra durante un período de al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 u 84 meses. En otros casos, la composición se administra durante el resto de la vida del individuo.

5

## EJEMPLOS

### Ejemplo 1: Preparación y conjugación lipídica de los oligonucleótidos fosforamidatos (NP) N3'AP5' o tio-fosforamidatos (NPS) N3'AP5'

10

Este ejemplo muestra cómo sintetizar oligonucleótidos fosforamidatos (NP) N3'AP5' o tio-fosforamidatos (NPS) N3'AP5' conjugados con lípidos.

#### ***Materiales y procedimientos***

15

##### Compuestos iniciales

Estos compuestos pueden prepararse como se describe, por ejemplo, en McCurdy et al., Tetrahedron Letters 38: 207-210 (1997) or Pongracz & Gryaznov, Tetrahedron Letters 49: 7661-7664 (1999). Los monómeros de 3'-amino nucleósidos de partida pueden prepararse como se describe en Nelson et al., J. Org. Chem. 62: 7278-7287 (1997) o mediante los procedimientos descritos en Gryaznov et al., US Application Publication No. 2006/0009636.

20

##### Acoplamiento de lípidos

25

Se puede usar una variedad de técnicas sintéticas para conjugar un resto lipídico L con el oligonucleótido, según la naturaleza del enlace seleccionado; véase, por ejemplo, Mishra et al., Biochim. et Biophys. Acta 1264: 229-237 (1995), Shea et al., Nucleic Acids Res. 18: 3777-3783 (1995), or Rump et al., Bioconj. Chem. 9: 341-349 (1995). Típicamente, la conjugación se logra mediante el uso de un grupo funcional adecuado en un terminal oligonucleotídico. Por ejemplo, el grupo 3'-amino presente en el extremo 3' de los oligonucleótidos NP y NPS puede hacerse reaccionar con ácidos carboxílicos, cloruros de ácido, anhídridos y ésteres activos, mediante catalizadores de acoplamiento adecuados, para formar un enlace amida. Los grupos tiol también son adecuados como grupos funcionales (véase Kupihar et al., Bioorg. Med. Chem. 9: 1241-1247 (2001)). Varios modificadores funcionalizados con amino y tiol de distintas longitudes de cadena están disponibles comercialmente para la síntesis de oligonucleótidos.

30

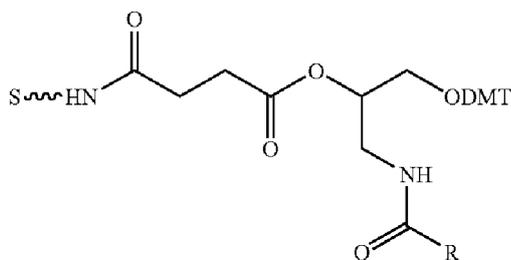
35

Las técnicas específicas para unir grupos lipídicos a un terminal de un oligonucleótido NP o NPS incluyen los descritos en la publicación de solicitud de EE. UU. N.º 2005/0113325. Además de los enlaces amida mencionados anteriormente, por ejemplo, los lípidos también pueden unirse a la cadena de oligonucleótidos usando un derivado de fosforamidato del lípido, para producir un enlace fosforamidato o tiofosforamidato que conecta el lípido y el oligonucleótido. El 3'-amino libre del oligonucleótido unido al soporte totalmente protegido también puede hacerse reaccionar con un aldehído lipídico adecuado, seguido de reducción con cianoborohidruro de sodio, que produce un enlace amina.

40

45

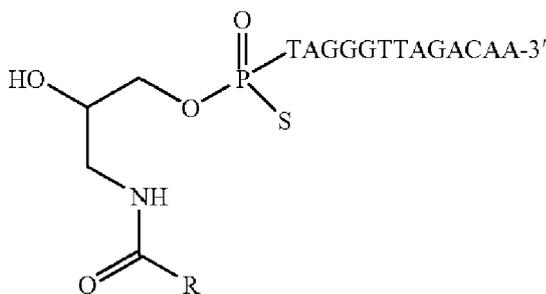
Para la unión de un lípido al extremo 5', como también se describe en la Publicación de la Solicitud de los EE. UU. N.º 2005/0113325, el oligonucleótido se puede sintetizar usando un soporte sólido modificado que contiene lípido. La reacción del 3'-amino-1,2-propanodiol con un cloruro de acilo graso (RC(O)Cl), seguido de la dimetoxitritilación del alcohol primario y la succinilación del alcohol secundario, proporciona un intermedio que luego se acopla, a través del grupo succinil carboxilo libre, al soporte sólido. A continuación se muestra un ejemplo de un soporte modificado, donde S representa un soporte de CPG de alquilamina de cadena larga y R representa un lípido.



50

A este procedimiento le sigue la síntesis del oligonucleótido en la dirección 5' a 3', como se describe, por ejemplo, en Pongracz y Gryaznov (1999), que comienza con la desprotección y la fosforilación del grupo -ODMT. Esto es efectivo para producir, por ejemplo, la siguiente estructura, después de la escisión del soporte sólido:

55



La estructura anterior, cuando -R es  $-(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$  (palmitoilo), se designa aquí como GRN163L (imelstat o imelstat sódico).

5

### Ensayo FlashPlate™

Este ensayo se realizó esencialmente como se describe en Asai et al., Cancer Research 63: 3931-3939 (2003). Brevemente, el ensayo detecta y/o mide la actividad de la telomerasa midiendo la adición de repeticiones teloméricas de TTAGGG a un cebador de sustrato de telomerasa biotinilado. Los productos biotinilados son capturados en placas de microtitulación recubiertas con estreptavidina, y una sonda de oligonucleótidos complementaria a repeticiones de 3,5 telómeros, marcada con  $^{32}\text{P}$ , se usa para medir productos de telomerasa. La sonda no unida se elimina mediante lavado, y la cantidad de hibridación de la sonda a los productos de telomerasa capturados se determina mediante recuento por centelleo.

15

### Ejemplo 2: Imelstat inhibe el crecimiento espontáneo de UFC-mega *in vitro* de pacientes con trombocitemia esencial y pacientes con mielofibrosis pero no de individuos sanos

Este ejemplo demuestra una supresión dependiente de la dosis de megacariocitos de unidades formadoras de colonias (UFC-mega) por imelstat en pacientes con trombocitemia esencial o mielofibrosis independiente del estado mutacional JAKV617F o terapia citorrreductora, lo que sugiere una especificidad de imelstat por las células megacariocíticas malignas.

20

### **Materiales y procedimientos**

25

Para determinar el efecto del imelstat sobre el crecimiento y la diferenciación de megacariocitos, se utilizaron los siguientes procedimientos: (1) las células de sangre de cordón umbilical (CB) se enriquecieron para células que expresan CD34+ usando un sistema de separación celular negativo; (2) las células se incubaron con imelstat (1-15  $\mu\text{M}$ ) en medio líquido sin suero, StemSpan® SFEM, que contiene una formulación de citocinas diseñada para el desarrollo de células progenitoras de megacariocitos; (3) se cultivaron células de sangre del cordón umbilical durante un total de 17 días; y (4) en varios momentos en el tiempo, las células se enumeraron y evaluaron mediante citometría de flujo para marcadores de diferenciación (CD41) y para actividad de la telomerasa mediante ensayo TRAP.

30

Para determinar las curvas de respuesta a la dosis de UFC-mega, se aislaron células sanguíneas mononucleares (CMN) de 3 individuos sanos y de 11 pacientes con TE y un paciente con mielofibrosis (MF) (determinado según los criterios de la OMS 2009) de sangre periférica y se suspendieron en IMDM o se colocaron en colágeno  $\pm$  citocinas (TPO, IL3, IL6, SCF, EPO) y se trataron con imelstat 0, 0,1, 1 y 10  $\mu\text{M}$  o un control de discordancia, y se incubaron durante varias horas (suspensiones celulares) o 10-12 días (colágeno más 5 % de  $\text{CO}_2$ ) a 37 °C. Los megacariocitos se tiñeron y se puntuó el número de UFC-mega. El análisis de dosis-respuesta utilizó un modelo log-logístico de 4 parámetros para  $\text{Log}_{10}$  (recuento de colonias) por dosis. La actividad de la telomerasa se midió en CMN mediante ensayo TRAP.

35

### **Resultados**

Las Figuras 1A y 1B muestran que imelstat no inhibe el crecimiento ni la diferenciación de megacariocitos en donantes sanos.

45

La Tabla 1 muestra el crecimiento espontáneo de UFC-mega y la inhibición por imelstat.

50

Tabla 1: % de UFC-Mega en paciente con trombocitemia esencial				
ID del paciente	0 $\mu\text{M}$ [%]	0,1 $\mu\text{M}$ [%] $\pm$ DE [%]	1 $\mu\text{M}$ [%] $\pm$ DE [%]	10 $\mu\text{M}$ [%] $\pm$ DE [%]

1*	100	138 ± 5,7	119 ± 3,8	46 ± 1,9
2*	100	106 ± 4,3	48 ± 4,3	39 ± 4,3
3*	100	104 ± 5,7	96 ± 11,3	44 ± 5,7
4*	100	77 ± -	3 ± -	14 ± -
5	100	138 ± 33,7	81 ± 23,6	52 ± 6,7
6	100	117 ± 4,9	52 ± -	45 ± 45,6
7	100	33 ± 5,9	29 ± 0,0	13 ± 2,9
8*	100	141 ± 9,6	49 ± 13,4	14 ± -
9*	100	80 ± 14,1	40 ± 7,1	40 ± -
10	100	130 ± 1,6	66 ± 8,1	3 ± 0,4
11*	100	114 ± 0	95 ± 34,4	49 ± 7,6
N = 11	100	107 ± 8,6	79 ± 11,8	33 ± 9,4
* JAK2 V617F-positivo				

La Tabla 2 muestra el crecimiento estimulado por citocina de UFC-mega y la ausencia de inhibición por imetelstat.

5

<b>Tabla 2: (%) de UFC-mega en individuos sanos</b>				
ID del donante	0 µM [%] C+	0,1 µM [%] ± DE [%] C+	1 µM [%] ± DE [%] C+	10 µM [%] ± DE [%] C+
1	100	93 ± 10	96 ± 5	86 ± 10
2	100	109 ± 58	109 ± 51	173 ± 13
3	100	111 ± 47	122 ± 20	78 ± 16
N=3	100	104 ± 38	109 ± 25	112 ± 13

La Figura 7 muestra que imetelstat inhibe el crecimiento o la diferenciación de megacariocitos en un paciente con mielofibrosis.

10

Las curvas de respuesta a la dosis en la Figura 2 y los resultados en la Figura 7 muestran que imetelstat reduce la proliferación de progenitores neoplásicos. UFC-mega de sangre periférica indican que imetelstat inhibe el crecimiento de megacariocitos neoplásicos (espontáneos) de pacientes con TE y MF, pero no inhibe el crecimiento de megacariocitos normal (dependiente de citocinas) de individuos sanos. Esta supresión dependiente de la dosis de la formación de UFC-mega por imetelstat en pacientes con TE es independiente del estado mutacional JAKV617F o la terapia citorreductora.

15

Ejemplo de referencia 3: Estudio de fase II para evaluar la actividad del imetelstat (GRN163L) en pacientes con trombocitemia esencial que requieren citorreducción y han fracasado o son intolerantes al tratamiento previo, o que rechazan la terapia estándar (Estudio de fase II TE imetelstat).

20

Este ejemplo demuestra que imetelstat induce y mantiene rápidamente respuestas hematológicas y moleculares sustanciales en pacientes con trombocitemia esencial (TE) que fueron refractarios o intolerantes al tratamiento previo.

## 25 **Materiales y procedimientos**

### Diseño de ensayos clínicos

Los pacientes con TE que habían fracasado o eran intolerantes a al menos un tratamiento previo (o que habían rechazado el tratamiento estándar) y que requerían citorreducción fueron inducidos con 7,5 - 11,7 mg/kg de imetelstat administrado como infusión intravenosa de 2 horas semanalmente, con dosis ajustadas a la respuesta plaquetaria. Cuando se logró un recuento de plaquetas de 250-300x10<sup>3</sup> /µl, la dosificación de mantenimiento con imetelstat se inició con dosis aumentadas o disminuidas en función de la respuesta plaquetaria y la toxicidad, con el objetivo de una

30

dosificación menos frecuente en la fase de mantenimiento.

Los criterios de inclusión de pacientes específicos con TE fueron: (1) un diagnóstico confirmado de TE según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS); (2) el paciente con TE requirió citorreducción y había fallado o era intolerante al menos a un tratamiento previo (o había rechazado el tratamiento estándar). Los criterios de laboratorio (dentro de los 14 días posteriores a la administración del fármaco del primer estudio) fueron: (1) plaquetas > 600,000 / $\mu$ l; (2) ANC > 1500 / $\mu$ l; (3) hemoglobina > 10 g/dl.

Los criterios generales para todos los pacientes fueron: (1) dispuesto y capaz de firmar un formulario de consentimiento informado; (2) hombre o mujer, mayores de 18 años; (3) estado de rendimiento ECOG de 0-2. Los criterios de laboratorio para todos los pacientes fueron (dentro de los 14 días posteriores a la administración del fármaco del primer estudio): (1) INR (o PT) y aPTT <1,5 x el límite superior de la normalidad (LSN); (2) creatina sérica <2 mg/dl; (3) bilirrubina sérica <2,0 mg/dl (pacientes con síndrome de Gilbert: bilirrubina sérica <3 x LSN); (4) AST (SGOT) y ALT (SGPT) <2,5 x LSN; (5) fosfatasa alcalina <2,5 LSN; (6) cualquier toxicidad clínicamente importante por tratamientos previos contra el cáncer y/o cirugía importante deberá haberse recuperado al Grado 0-1 antes del inicio del tratamiento del estudio.

Los pacientes que cumplían cualquiera de los siguientes criterios fueron excluidos del reclutamiento y el ingreso al estudio: (1) mujeres que estaban embarazadas o en periodo de lactancia; (2) trasplante previo de células madre; (3) tratamiento de investigación dentro de las 4 semanas previas a la administración del fármaco del primer estudio; (4) enfermedad o afección cardiovascular clínicamente importante que incluye: (a) insuficiencia cardíaca congestiva no controlada (CHF); (b) necesidad de terapia antiarrítmica para una arritmia ventricular; (c) alteración de la conducción grave clínicamente importante según criterio del investigador; (d) angina de pecho continua que requiere tratamiento; (e) enfermedad cardiovascular de clase II, III o IV según la New York Heart Association (NYHA); (f) serología positiva conocida para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH); (g) afecciones médicas concomitantes graves, que incluyen hemorragias activas o crónicamente recurrentes, infección activa clínicamente relevante, cirrosis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica o restrictiva crónica según el criterio del investigador; o (h) cualquier otra afección médica o psiquiátrica grave, aguda o crónica, anormalidad de laboratorio o dificultad para cumplir con los requisitos del protocolo que pueden aumentar el riesgo asociado con la participación en el estudio o la administración del medicamento del estudio o pueden interferir con la interpretación de los resultados del estudio y, a juicio del investigador, haría al paciente inapropiado para el estudio.

El criterio de valoración principal fue la mejor tasa de respuesta (TR) hematológica general (TR) (respuesta completa (RC) + respuesta parcial (RP)). El período de tiempo fue desde el momento de la primera dosis (ciclo 1 día 1) hasta el final del estudio (12 meses después de la última dosis del último participante).

Los objetivos de los criterios de valoración secundarios fueron determinar la duración de la respuesta hematológica, determinar la respuesta molecular (pacientes JAK2 V617F/MPL W515<sup>mut</sup>), y examinar la seguridad y la tolerabilidad mediante el seguimiento del número de pacientes con toxicidades hematológicas, acontecimientos adversos (AEs, por sus siglas en inglés) de Grado 3 y 4 no hemo y acontecimientos hemorrágicos. El período de tiempo fue desde el momento de la primera dosis (ciclo 1 día 1) hasta el final del estudio (12 meses después de la última dosis del último participante). El objetivo exploratorio fue el crecimiento espontáneo de UFC-mega (solo lugares seleccionados).

La Tabla 3 presenta las definiciones de respuesta para el estudio. Los criterios europeos de respuesta neta a la leucemia fueron adaptados de Barosi et al., Blood (2009). La respuesta hemo se contó como la última de las 4 semanas.

<b>Tabla 3: Definiciones de respuesta</b>	
<b>Grado de respuesta hematológica</b>	<b>Definición</b>
Respuesta completa (RC)	La normalización de las plaquetas (<400 x 10 <sup>3</sup> / $\mu$ l) se mantuvo durante al menos 4 semanas consecutivas, en ausencia de acontecimientos tromboembólicos.
Respuesta parcial (RP)	Plaquetas (<600 x 10 <sup>3</sup> / $\mu$ l) o una reducción del 50 % en las plaquetas mantenidas durante al menos 4 semanas consecutivas, en ausencia de acontecimientos tromboembólicos.
<b>Grado de respuesta molecular</b>	<b>Definición</b>
Respuesta completa (RC)	Reducción de cualquier anomalía molecular específica a niveles indetectables.
Respuesta parcial (RP)*	1) Una reducción de >50 % del valor inicial en pacientes con <50 % de carga de alelo mutante al inicio O

*Se aplica solo a pacientes con un valor basal de carga de alelo mutante >10 %	2) Una reducción de >25 % del valor basal en pacientes con >50 % de carga de alelo mutante al inicio.
Sin respuesta (SR)	Cualquier respuesta que no satisfaga una respuesta completa o parcial.

La demografía del paciente se proporciona en la Tabla 4 a continuación.

<b>Tabla 4: Datos demográficos del paciente</b>	
<b>Mediana característica (rango)</b>	<b>Total (N = 14)</b>
Edad	59,5 años (21-83)
Años desde el diagnóstico inicial	5,8 (0,3 - 24,9)
Mediana del recuento de plaquetas basales	787,5 x 10 <sup>3</sup> /μl (521-1359)
Mediana del recuento de leucocitos basales	6,6 x 10 <sup>3</sup> /μl (3,0 - 14,6)
Pts con JAK2 V617F Pts con MPL515 <sup>mt</sup>	7 (50 %) 2 (14,3 %)
Más de un tratamiento previo (anagrelida +/- IFN)*	9 (64 %)
*Los 14 pacientes recibieron hidroxiurea previa (6 resistentes, 8 intolerantes)	
Resistente a al menos un tratamiento previo	7 (50 %)
Intolerante o rechazo a al menos un tratamiento previo	11 (71 %)

5

### Resultados

La Figura 3 muestra que se logró una respuesta hematológica global del 100 % en los 14 pacientes con TE que habían fallado o eran intolerantes a las terapias convencionales. Se logró una respuesta completa en 13 de 14 pacientes (92,9 %) y una respuesta parcial en 1 de 14 pacientes (7,1 %). Todos los pacientes que alcanzaron una RC hematológica permanecen en tratamiento. Los datos indicaron que el tiempo hasta la primera aparición del recuento de plaquetas <400 x 10<sup>3</sup> /μl (marcado para cada paciente con un diamante) tuvo una mediana de valor de 3,1 semanas (2,1 a 23,1 semanas), mientras que el tiempo para completar la respuesta tuvo una mediana de valor de 6,1 semanas (5,1 a 14,1 semanas) (Figura 3).

15

En la Tabla 5 a continuación se proporcionan datos sobre la frecuencia de dosificación para los 13 pacientes que tuvieron una respuesta hematológica completa y comenzaron la terapia de mantenimiento. La frecuencia de dosificación de mantenimiento generalmente disminuyó con el tiempo (el rango fue semanal a Q7 semanas) con la mayoría (84,6 % o 11/14) de los pacientes que recibieron imetelstat cada 2 semanas o con menos frecuencia (según la mediana). El 85,7 % de los pacientes (6/7) que fueron elegibles para permanecer en tratamiento después de 1 año han continuado el tratamiento de mantenimiento.

20

<b>Tabla 5: Frecuencia de dosificación en mantenimiento</b>	
<b>Mediana de la frecuencia del tratamiento</b>	<b>N = 13</b>
Semanalmente	2 (15,4 %)
Cada 2 semanas	3 (23,1 %)
Cada 3 semanas	2 (15,4 %)
> Cada 3 semanas	6 (46,1 %)

Como se muestra en la Figura 4A, el % de carga alélica JAK2 V617F disminuyó con el tiempo en todos los pacientes, mientras que la Figura 4B muestra que se alcanzaron respuestas moleculares (RP) en 6/7 (85,7 %) pacientes evaluados con JAK2 V617F dentro de un rango de 3-6 meses.

25

La Tabla 6 muestra los resultados con respecto al criterio de valoración exploratorio (UFC-mega). El crecimiento espontáneo reducido de UFC-mega *ex vivo* se demostró en los dos pacientes evaluados (93 % y 96 % de reducción desde el inicio, respectivamente), lo que confirma los datos *ex vivo* previos.

30

# paciente	Momento inicial	1 mes
4	22,7	1,7
8	8,0	0,3

La Figura 5 muestra que el crecimiento espontáneo de UFC-mega no se correspondía con la reducción de la carga alélica JAK2 en un paciente (paciente #4).

- 5 Los datos sugieren que imetelstat tiene un efecto inhibitorio relativamente selectivo sobre el crecimiento de los clones neoplásicos que impulsan las neoplasias mieloproliferativas (NMP), como en la trombocitemia esencial, y tiene el potencial de modificar la biología subyacente de la enfermedad.
- 10 La tabla 7 muestra los acontecimientos adversos no hematológicos frecuentes clínicamente importantes.

Acontecimientos adversos no hematológicos frecuentes	Todos los grados (N = 14)	Grado 3 (N = 14)
Acontecimientos gastrointestinales (náuseas/diarrea/estreñimiento)	14 (100 %)	0
Infecciones	12 (85,7 %)	1* (7,1 %)
Cansancio	9 (64,3 %)	1 (7,1 %)
Trastornos musculoesqueléticos	9 (64,3 %)	0
Acontecimientos hemorrágicos	8 (57,1 %)	1** (7,1 %)
Cefalea	7 (50 %)	1 (7,1 %)
Tos	7 (50 %)	0
Disminución del apetito	7 (50 %)	0
Mareos	6 (42,9 %)	
Reacciones a la infusión	4 (28,6 %)	1*** (7,1 %)
Un acontecimiento adverso de Grado 4: fractura de cuello no relacionada con el imetelstat. Sin acontecimiento adversos de grado 5 y sin tromboembolismo Los acontecimientos fueron notificados.		
* Celulitis de grado 3 / infección de la herida		
** Anemia hemorrágica postoperatoria de grado 3		
*** Síncope de grado 3; paciente permanece en tratamiento		

La Tabla 8 muestra las alteraciones de laboratorio:

Parámetro de laboratorio	Todos los grados (N = 14)	Grado 3 (N = 14)	Grado 4
ALT/AST (cambio de grado inicial)	13 (92,9 %)	2 (14,3 %)	0
Neutropenia	11 (78,6 %)	4 (28,6 %)	2 (14,3 %)
Anemia (cambio de grado inicial)	9 (64,3 %)	1 (7,1 %)*	0
Trombocitopenia	6 (42,9 %)	0	0

No se notificaron casos de neutropenia febril.	
* Anemia hemorrágica postoperatoria	

Ejemplo 4: Un estudio piloto abierto sobre la eficacia y la seguridad del imetelstat (GRN163L) en pacientes con DIPSS más mielofibrosis primaria (MFP) intermedia-2 o de alto riesgo, mielofibrosis pospolicitemia vera (MF pos-PV) o mielofibrosis posttrombocitemia esencial (MF pos-TE)

**Materiales y procedimientos**

Diseño de ensayos clínicos

Los pacientes con DIPSS más mielofibrosis primaria (MFP) intermedia-2 o de alto riesgo, mielofibrosis pospolicitemia vera (MF pos-PV) o mielofibrosis posttrombocitemia esencial (MF pos-TE) que no estaban en tratamiento activo fueron inducidos con 9,4 mg/kg de imetelstat administrado como una infusión intravenosa de 2 horas una vez cada 21 días (cohorte A). Alternativamente, a los pacientes se les administró una infusión de 2 horas (9,4 mg/kg) semanalmente durante 3 semanas, seguido de una vez cada 21 días (cohorte B). Los pacientes pueden recibir tratamiento por un máximo de 9 ciclos. Los pacientes pueden continuar la terapia más allá de los 9 ciclos.

Los criterios de inclusión de pacientes específicos de MFP fueron: (1) un diagnóstico confirmado de TE según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS); (2) proliferación de megacariocitos con atipia acompañada de reticulina y/o fibrosis de colágeno o (4) no cumple con los criterios de la OMS para LMC, PV, SMD u otra neoplasia mielóide o (5) no hay evidencia de fibrosis medular reactiva.

Los criterios de inclusión de pacientes específicos de MF pos-PV fueron: (1) un diagnóstico confirmado de PV según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS); (2) fibrosis de la médula ósea grado 2-3 (en una escala 0-3) o grado 3-4 (en una escala 0-4) y (3) dos o más de (a) anemia o pérdida sostenida del requerimiento de flebotomía en ausencia de terapia citorreductora o (b) imagen de sangre periférica leucoeritroblástica o (c) aumento de la esplenomegalia definida como un aumento de la esplenomegalia palpable de >5 cm o la aparición de una esplenomegalia palpable recientemente o (d) desarrollo de >1 de los tres síntomas constitucionales: 10 % de pérdida de peso en 6 meses, sudores nocturnos, fiebre inexplicable (37,5 °C).

Los criterios de inclusión de pacientes específicos con MF pos-TE fueron: (1) un diagnóstico confirmado de TE según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS); (2) fibrosis de la médula ósea grado 2-3 (en una escala 0-3) o grado 3-4 (en una escala 0-4) y (3) dos o más de (a) anemia y una disminución > 2g/dl desde el nivel basal de hemoglobina o (b) imagen de sangre periférica leucoeritroblástica o (c) aumento de la esplenomegalia definida como un aumento en la esplenomegalia palpable de >5 cm o la aparición de una esplenomegalia palpable recientemente o (d) aumento de deshidrogenasa de castato o (e) desarrollo de >1 de los tres síntomas constitucionales: 10 % de pérdida de peso en 6 meses, sudores nocturnos, fiebre inexplicable (37,5 °C).

Los criterios generales para todos los pacientes fueron: (1) dispuesto y capaz de firmar un formulario de consentimiento informado; (2) hombre o mujer, mayores de 18 años; (3) estado de rendimiento ECOG de 0-2. Los criterios de laboratorio para todos los pacientes fueron (dentro de los 14 días posteriores a la administración del fármaco del primer estudio): (1) AST (SGOT) y ALT (SGPT) <2,5 x LSN; (2) creatina <3 mg/dl; (3) recuento absoluto de neutrófilos >1000/µl; (4) recuento de plaquetas >50.000/µl; (5) ausencia de tratamiento activo con anticoagulación sistémica y un PT y aPTT basal que no exceda 1,5 x LSN.

Los pacientes que cumplían cualquiera de los siguientes criterios fueron excluidos del reclutamiento y el ingreso al estudio: (1) mujeres que estaban embarazadas o en periodo de lactancia; (2) cualquier terapia de quimioterapia con fármacos inmunomoduladores, terapia inmunosupresora, corticosteroides 10 mg/día de prednisona o equivalente, tratamiento con factor de crecimiento o terapia con inhibidor de JAK <14 días antes del registro; (4) sujetos con otra neoplasia maligna activa. (5) estado positivo conocido para el VIH (6) cualquier toxicidad no resuelta superior a Grado 2 de la terapia anticancerígena previa (6) recuperación incompleta de cualquier procedimiento quirúrgico anterior (7) presencia de infección activa aguda que requiera antibióticos (8) enfermedad intercurrente no controlada o cualquier condición concurrente que ponga en peligro la seguridad del paciente o el cumplimiento del protocolo.

El criterio de valoración principal fue la mejor tasa de respuesta (TR) global (mejoría clínica (MC) o respuesta completa (RC) o respuesta parcial (RP)). El período de tiempo fue desde el momento de la primera dosis (ciclo 1 día 1) hasta los primeros 9 ciclos de tratamiento.

Los objetivos de los criterios de valoración secundarios fueron determinar los (a) acontecimientos adversos, (b) la respuesta del bazo: definida como una reducción mínima del 50 % en la esplenomegalia palpable de un bazo que es al menos 10 cm en el momento inicial o un bazo que es palpable en más de 5 cm en el momento inicial (c) independencia de transfusión: donde la dependencia de transfusión se define como un historial de al menos 2 unidades

5 de transfusiones de glóbulos rojos en el último mes para un nivel de hemoglobina de menos de 85 g/l que no estaba asociado con sangrado clínicamente manifiesto. El período de tiempo fue desde el momento de la primera dosis (ciclo 1 día 1) hasta el final del estudio. El objetivo exploratorio fue (a) la evaluación histológica de la médula ósea de la reversión de la fibrosis de la médula ósea a un grado inferior y (b) la parte de los pacientes con leucocitosis y trombocitosis iniciales que lograron al menos un 50 % de reducción en sus recuentos al final de los ciclos 3, 6 y 9.

La Tabla 9 presenta las definiciones de respuesta para el estudio. Se utilizaron los criterios de consenso del Grupo Internacional de Trabajo (GTI) para la respuesta al tratamiento en mielofibrosis con metaplasia mieloide.

<b>Tabla 9: Definiciones de respuesta</b>	
	<b>Definición</b>
Remisión completa (RC)	<p>Resolución completa de síntomas y signos relacionados con la enfermedad, incluida la hepatoesplenomegalia palpable.</p> <p>La remisión del recuento sanguíneo periférico se define como el nivel de hemoglobina de al menos 110 g/l, el recuento de plaquetas de al menos <math>100 \times 10^9 / l</math> y el recuento absoluto de neutrófilos de al menos <math>1,0 \times 10^9 / l</math>. Además, los 3 recuentos sanguíneos no deben ser superiores al límite superior normal.</p> <p>Diferencial de leucocitos normal que incluye la desaparición de glóbulos rojos nucleados, blastos y células mieloides inmaduras en el frotis periférico en ausencia de esplenectomía. La remisión histológica de la médula ósea se define como la presencia de normocelularidad ajustada por edad, no más del 5 % de mieloblastos y un grado de osteomielofibrosis no superior a 1.</p>
Remisión parcial (RP)	<p>requiere todos los criterios anteriores de la RC, excepto el requisito de remisión histológica de la médula ósea. Sin embargo, se requiere una biopsia repetida de médula ósea en la evaluación de la RP y puede o no mostrar cambios favorables que, sin embargo, no cumplen los criterios completos para la RC.</p>
Mejora clínica (MC)	<p>Requiere uno de los siguientes en ausencia de progresión de la enfermedad y asignación de RC/RP</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. un aumento mínimo de 20 g/l en el nivel de hemoglobina o volverse independiente de la transfusión (aplicable solo para pacientes con un nivel de hemoglobina pretransfusión basal de 100g/l)</li> <li>2. o una reducción mínima del 50 % en la esplenomegalia palpable de un bazo que es de al menos 10 cm al inicio o un bazo que es palpable a más de 5 cm al inicio pasa a no ser palpable</li> <li>3. un aumento mínimo del 100 % en el recuento de plaquetas y un recuento absoluto de plaquetas de al menos <math>50,000 \times 10^9 / l</math> (aplicable solo para pacientes con un recuento basal de plaquetas por debajo de <math>50 \times 10^9 / l</math>)</li> <li>4. un aumento mínimo del 100 % en el ANC y un ANC de al menos <math>0,5 \times 10^9 / l</math> (aplicable solo para pacientes con recuento basal de neutrófilos por debajo de <math>1 \times 10^9 / l</math>).</li> </ol>
Enfermedad progresiva (EP)	<p>Requiere uno de los siguientes:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Esplenomegalia progresiva que se define por la aparición de una esplenomegalia previamente ausente que es palpable a más de 5 cm por debajo del margen costal izquierdo o un aumento mínimo del 100 % en la distancia palpable para la esplenomegalia basal de 5 a 10 cm o un aumento mínimo del 50 % en distancia palpable para la esplenomegalia basal mayor de 10 cm</li> <li>2. Transformación leucémica confirmada por un recuento de blastos de médula ósea de al menos un 20 %</li> <li>3. Un aumento en el porcentaje de blastos en sangre periférica de al menos un 20 % que dura al menos 8 semanas.</li> </ol>
Enfermedad estable	Ninguna de las anteriores
Recaída	Pérdida de RC, RP o MC

10

**Resultados**

Se ha observado un beneficio clínico en pacientes incluidos en el estudio. Treinta y tres pacientes fueron inscritos; se

presentan los primeros 18 pacientes incluidos y seguidos durante un mínimo de 3 meses o que se retiraron: 11 pacientes en la cohorte A y 7 pacientes en la cohorte B; 44 % MFP, 33 % MF pos-PV y 22 % MF pos-TE. La mediana de edad fue de 68 años y el riesgo inicial fue alto en el 56 % e intermedio-2 en el 44 %. Siete pacientes eran dependientes de transfusiones. La mediana del tamaño del bazo fue de 13 cm y 11 pacientes tenían síntomas constitucionales. El cariotipo fue anómalo en 7 pacientes y el 89 % portaban mutaciones por JAK2. Quince (83 %) pacientes fueron tratados previamente, incluidos 7 con un inhibidor de JAK y 3 con pomalidomida.

Toxicidad

En una mediana de seguimiento de 3,2 meses, 16 (89 %) pacientes permanecen en tratamiento; las dos interrupciones fueron por muerte no relacionada y progresión de la enfermedad. En la cohorte A, no hubo acontecimientos adversos relacionados con el tratamiento de grado 4; los eventos de grado 3 se limitaron a trombocitopenia en el 27 % y anemia en el 9 %. En la cohorte B, dos (29 %) pacientes experimentaron trombocitopenia de grado 4; los acontecimientos de grado 3 se limitaron a trombocitopenia, neutropenia y anemia en un paciente cada uno. La reducción de la dosis fue necesaria en solo dos (11 %) pacientes debido a mielosupresión de grado 3 o 4.

Eficacia

La tasa de respuesta global fue del 44 %. Esto incluyó a cinco (28 %) pacientes que cumplieron los criterios morfológicos de médula ósea y sangre periférica para respuesta completa (RC) (n=4) o respuesta parcial (RP) (n=1) y 3 pacientes con mejoría clínica, pendiente de validación de duración de la respuesta y resolución de la trombocitopenia grado 1 inducida por fármacos. Los cuatro (22 %) pacientes con RC experimentaron reversión de la fibrosis de la médula ósea (MO) y recuperación de la morfología normal de megacariocitos. Dos pacientes con RC dependían de la transfusión al inicio del estudio y se volvieron independientes de la transfusión. Se documentaron respuestas moleculares completas en 2 pacientes con RC: uno tenía JAK2V617F al 10 % y el otro JAK2V617F al 50 %. Entre 13 pacientes con leucocitosis, 10 (77 %) normalizaron su recuento o tuvieron una reducción >50 %. Once (61 %) pacientes tenían resolución completa o parcial de leucoeritroblastosis.

Se realizó un análisis posterior y más completo de 22 pacientes inscritos en el grupo A y el grupo B. La tabla 10 muestra los resultados.

**Tabla 10: Criterio de valoración primario Resumen de la respuesta general según los criterios 2013 IWG-MRT Todos los pacientes aptos en los grupos A y B**

	Grupo A (N = 11)	Grupo B (N = 11)	Total (N = 22)
<b>Mejor respuesta según IWG- MRT</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>
Respuesta general (RC+RP+MC)	4 (36,4 %)	6 (54,5 %)	10 (45,5 %) (Intervalo de confianza del 95 %: 24,4 % - 67,8 %)
Remisión (RC+RP)	2 (18,2 %)	3 (27,3 %)	5 (22,7 %)
Remisión completa	2 (18,2 %)§	1 (9,1 %)	3 (13,6 %)
Remisión parcial		2 (18,2 %)	2 (9,1 %)
RP con MO		1 (9,1 %)	1 (4,5 %)
Remisiones RP sin MO		1 (9,1 %)	1 (4,5 %)
Remisiones			
Mejora clínica	2 (18,2 %)	3 (27,3 %)	5 (22,7 %)
Respuesta anemia CI-by	1 (9,1 %)	1 (9,1 %)	2 (9,1 %)
Respuesta hepática CI-by		1 (9,1 %)§	1 (4,5 %)
Respuesta esplénica CI-by	1 (9,1 %)	1 (9,1 %)	2 (9,1 %)
Solo respuesta esplénica	1 (9,1 %)		1 (4,5 %)
Enfermedad estable	6 (54,5 %)¶	5 (45,5 %)¶	11 (50 %)

§ Dos pacientes están pendientes de evaluación de durabilidad de 12 semanas.  
 ¶ Dos pacientes cuya mejor respuesta fue SD habían desarrollado enfermedad progresiva y abandonaron el estudio, uno debido a la transformación a CMML (Grupo A) y el otro debido al desarrollo de esplenomegalia (Grupo B).

El tiempo de respuesta inicial (mediana) para RC/RP/MC es de 2,4 meses.

El tiempo de respuesta inicial (mediana) para RC/RP es de 2,8 meses.

5 Ejemplo de referencia 5: Imetelstat inhibe el crecimiento espontáneo de células CD34+ *in vitro* de pacientes con leucemia mieloide aguda pero no de individuos sanos

10 Este ejemplo demuestra una supresión dependiente de la dosis de células CD34+ por imetelstat en pacientes con leucemia mieloide aguda, lo que sugiere una especificidad de imetelstat por las células CD34+ malignas.

**Materiales y procedimientos**

15 Para determinar el efecto de imetelstat se utilizaron los siguientes procedimientos: (1) las células de la médula ósea se incubaron con imetelstat (0.1-10 µM) en un ensayo de formación de colonias y en cultivo líquido durante un total de 14 días y en distintos momentos, las células se enumeraron y evaluaron.

20 Para determinar las curvas de respuesta a la dosis de UFC, se aislaron células de médula ósea de 4 individuos sanos o de 5 pacientes con LMA de placas de sangre periférica y se trataron con imetelstat 0, 0,1, 1 y 10 µM o un control de discordancia. La UFC-GM (unidades formadoras de colonias - granulocitos, macrófagos) y BFU-E (unidades formadoras de colonias eritroides en ramillete) se tiñeron y se puntuó el número de UFC-GM y BFU-E.

**Resultados**

25 El imetelstat no redujo las UFC de la médula ósea de un donante sano en un ensayo de UFC de 14 días.

Se observó una reducción de UFC de células de médula ósea de un paciente con LMA tras el tratamiento con imetelstat en un ensayo de UFC de 14 días.

30 El imetelstat redujo el crecimiento celular de las células de la médula ósea de pacientes con LMA recién diagnosticados en un ensayo de cultivo líquido de 14 días.

35 El imetelstat redujo el crecimiento de células CD34+ derivadas de las células de la médula ósea de un paciente con LMA, pero no de la médula ósea de un paciente normal. La **Figura 6** representa el porcentaje de crecimiento celular en cultivo después del tratamiento *in vitro* con imetelstat de células CD34+ obtenidas de un donante sano y células CD34+ de un paciente con LMA en el día 5, día 7 y día 9.

40 Los ejemplos, que están destinados a ser puramente ejemplares de la invención, también describen y detallan aspectos y realizaciones de la invención discutidos anteriormente. Los ejemplos anteriores y la descripción detallada se ofrecen a modo de ilustración.

**REIVINDICACIONES**

1. Un inhibidor de la telomerasa para su uso en el alivio de al menos un síntoma resultante de mielofibrosis (MF) en un individuo, en el que el inhibidor de la telomerasa es imetelstat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 1, en donde el al menos un síntoma aliviado comprende esplenomegalia y dolor esplénico, saciedad temprana, anemia, dolor óseo, cansancio, fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso, debilidad, desmayos, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de la boca o las encías, melena o accidente cerebrovascular.
3. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 1, en el que el al menos un síntoma aliviado comprende dolor óseo, fatiga, fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso, debilidad, desmayos, hemorragias nasales, hematomas, sangrado de la boca o las encías, melena o accidente cerebrovascular.
4. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 1, en el que el inhibidor reduce la proliferación de células progenitoras neoplásicas en un individuo diagnosticado con o con sospecha de mielofibrosis (MF).
5. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 1, en el que el inhibidor reduce la fibrosis de la médula ósea en un individuo diagnosticado con o con sospecha de mielofibrosis (MF).
6. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 1, en donde el inhibidor reduce la anemia.
7. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 1, en el que el inhibidor proporciona independencia de la transfusión de glóbulos rojos en un individuo diagnosticado o con sospecha de mielofibrosis (MF) y que requirió al menos 2 unidades de transfusiones de glóbulos rojos en el último mes para un nivel de hemoglobina de menos de 85 g/l no asociado con sangrado clínicamente manifiesto.
8. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 1, en donde el síntoma aliviado es la esplenomegalia palpable de un bazo de al menos 10 cm al inicio del estudio en un individuo diagnosticado o con sospecha de mielofibrosis (MF), en el que la esplenomegalia palpable del bazo se reduce en un 50 % o más.
9. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 1, en el que el síntoma aliviado puede ser la esplenomegalia palpable de un bazo que es palpable a más de 5 cm al inicio del estudio en un individuo diagnosticado o con sospecha de mielofibrosis (MF), en el que el bazo se vuelve no palpable.
10. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el individuo porta una mutación de ganancia de función V617F en el gen Janus quinasa 2 (JAK2) y el uso del inhibidor de la telomerasa disminuye el porcentaje de carga alélica JAK2 V617F en el individuo.
11. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el individuo es resistente o intolerante a un tratamiento previo no basado en un inhibidor de la telomerasa.
12. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el inhibidor de la telomerasa es para la administración con un excipiente farmacéuticamente aceptable.
13. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el inhibidor de la telomerasa es para administración por vía oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, tópica, intraperitoneal, intranasal, por inhalación o intraocular.
14. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que una o más células progenitoras neoplásicas entran en contacto con el inhibidor de la telomerasa.
15. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg.
16. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg.
17. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg.
18. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el inhibidor de la telomerasa no inhibe el crecimiento de megacariocitos dependientes de citocinas.
19. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el inhibidor de la telomerasa inhibe el crecimiento de megacariocitos independiente de la citocina.

20. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el inhibidor de la telomerasa inhibe las UFC-mega.
- 5 21. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 20, en donde la inhibición de UFC-mega es independiente de la reducción en la carga alélica de JAK2.
22. El inhibidor de la telomerasa para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el inhibidor de la telomerasa es imetelstat sódico.
- 10 23. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 22, en el que la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 6,5 mg/kg a 11,7 mg/kg.
- 15 24. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 22, en el que la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 7,5 mg/kg a 9,4 mg/kg.
25. El inhibidor de la telomerasa para el uso de la reivindicación 22, en el que la cantidad efectiva de un inhibidor de la telomerasa es de 9,5 mg/kg a 11,7 mg/kg.

Figura 1

A

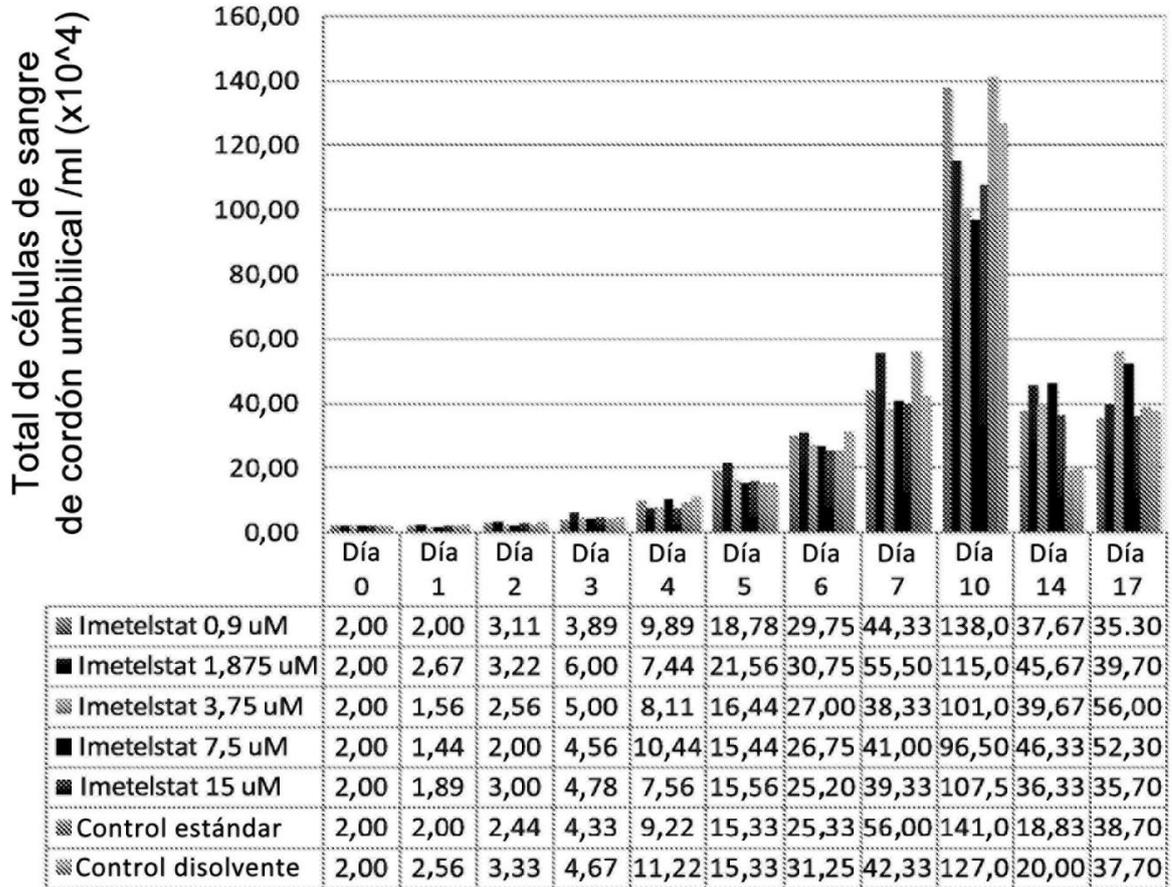


Figura 1

B

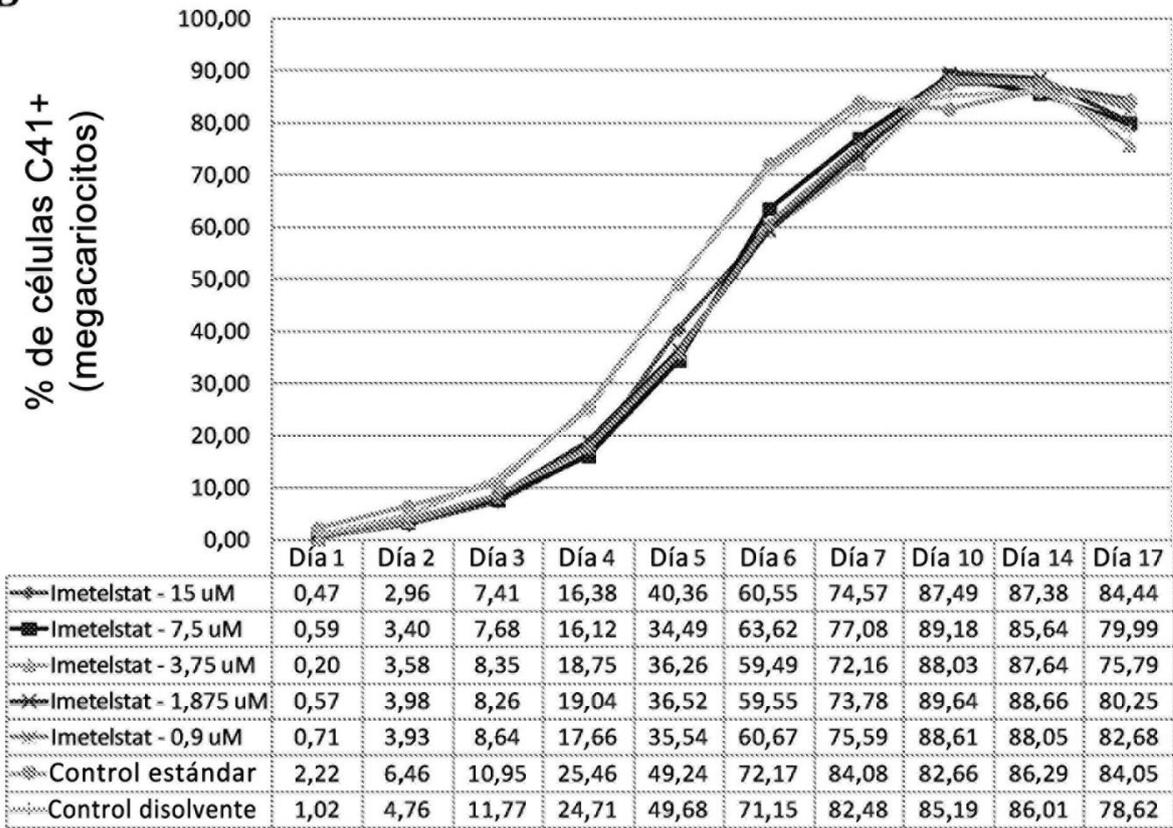


Figura 2

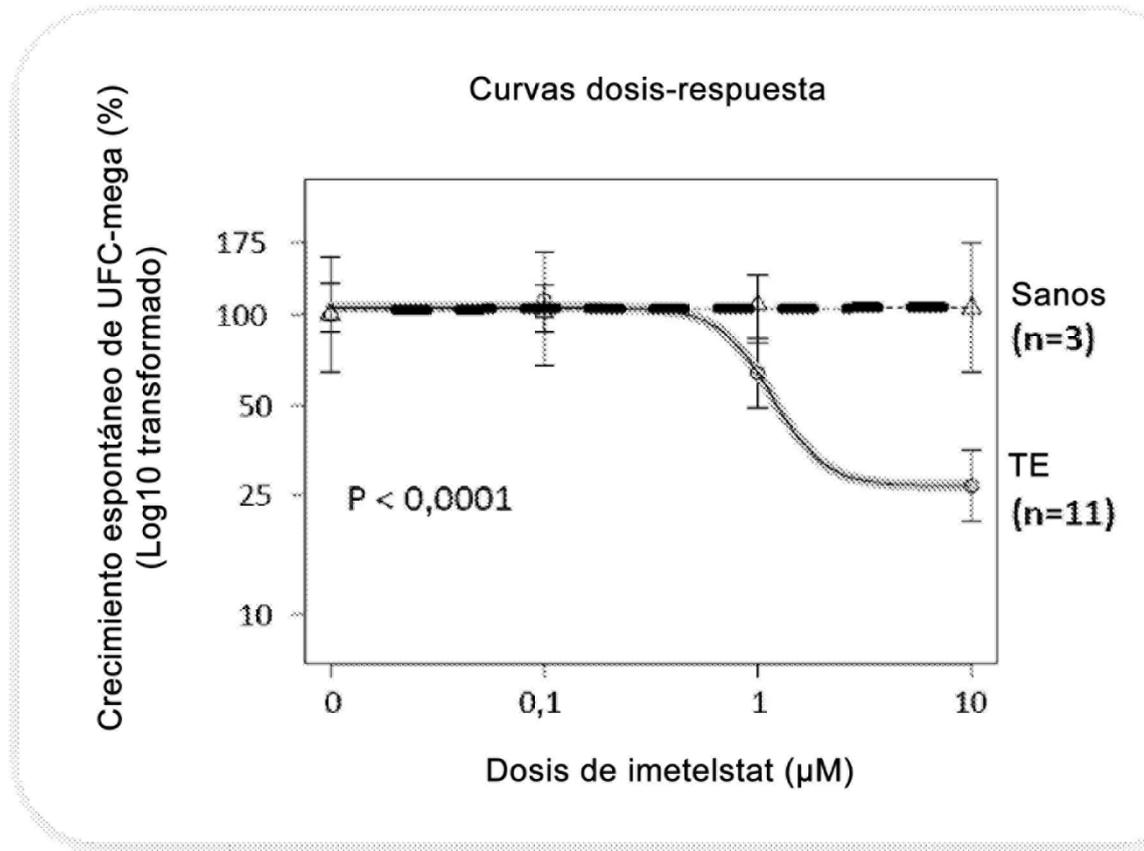


Figura 3

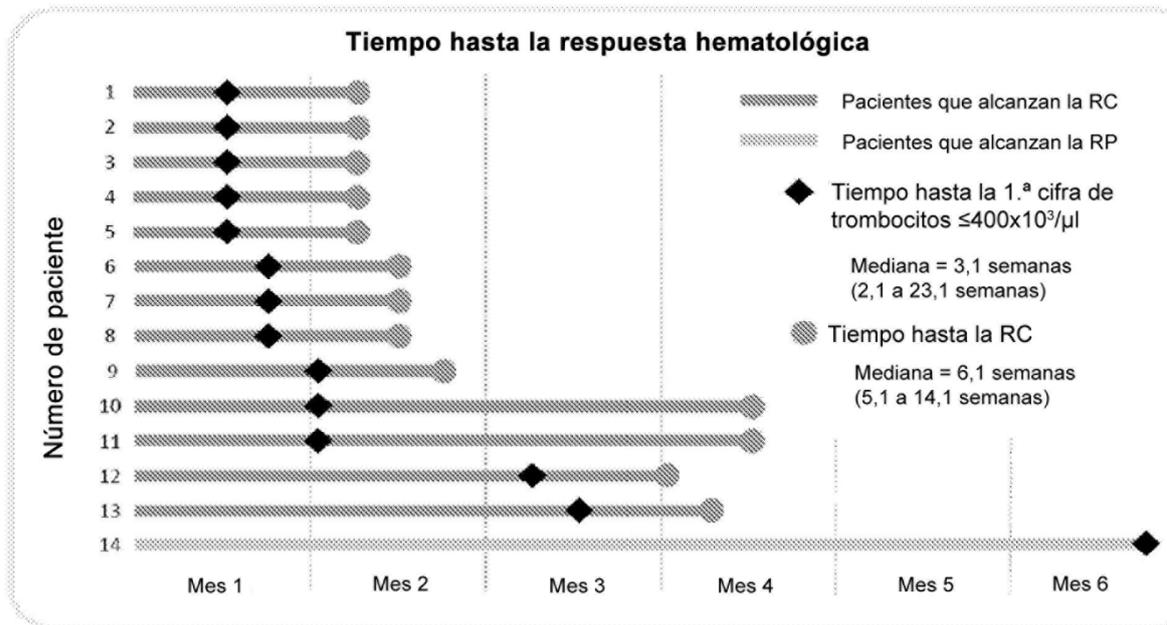


Figura 4

A

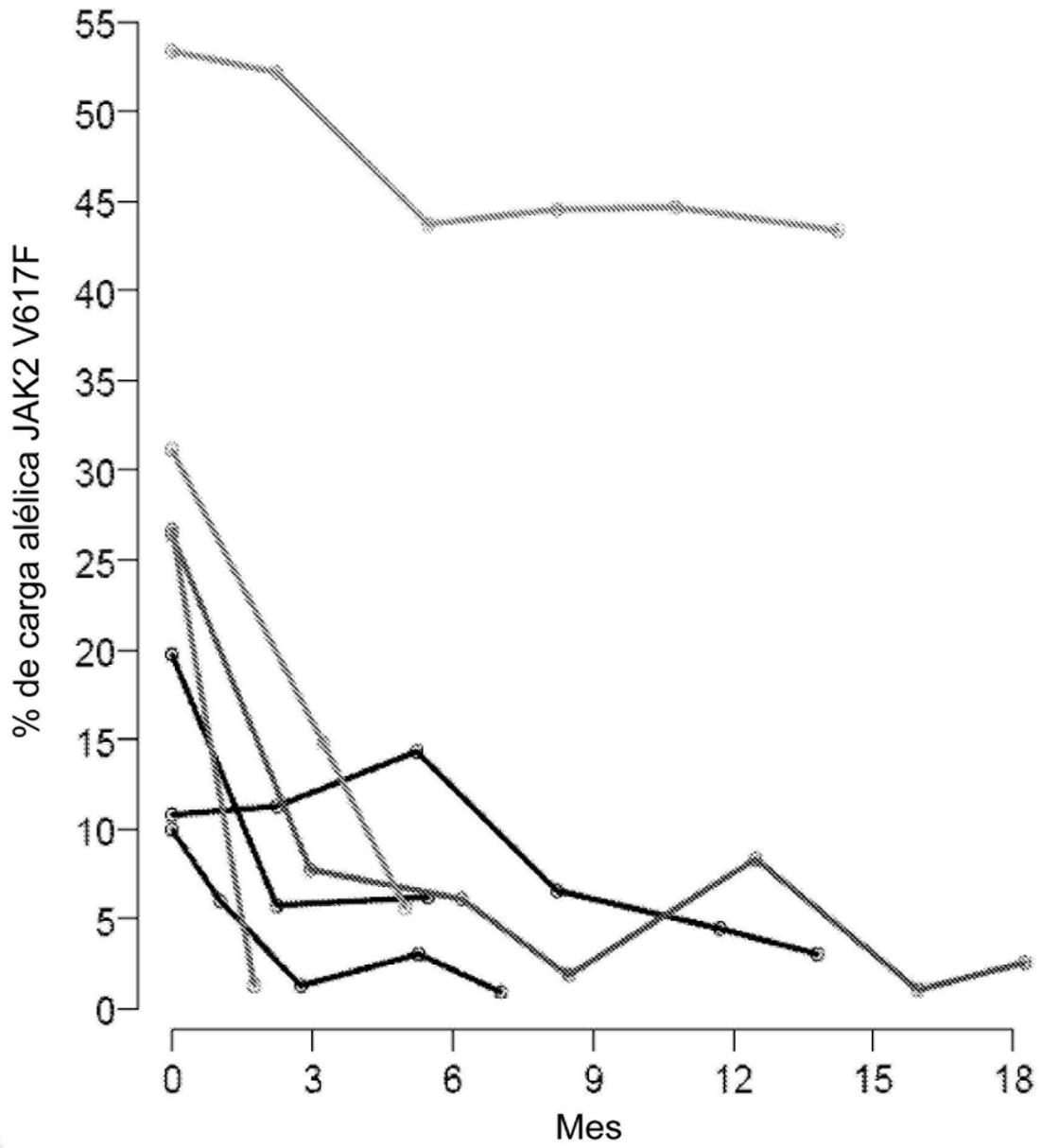


Figura 4

B

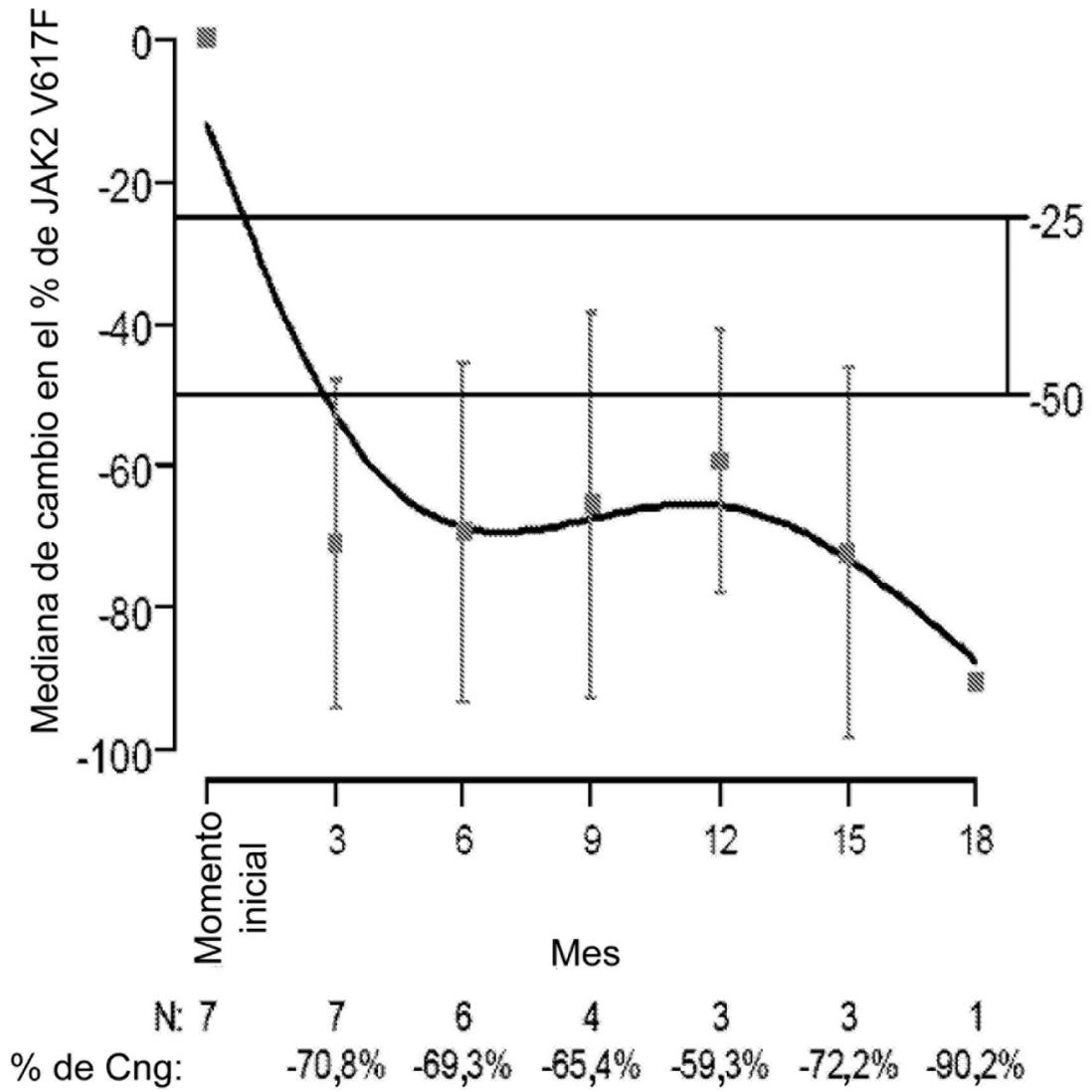


Figura 5

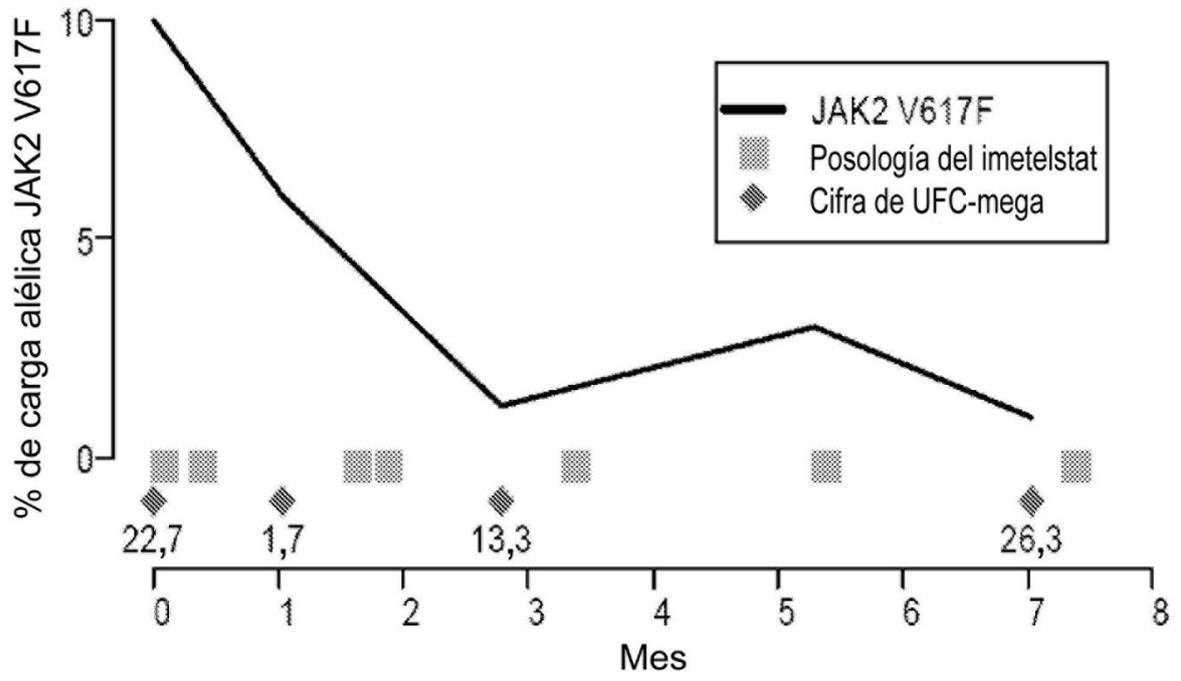
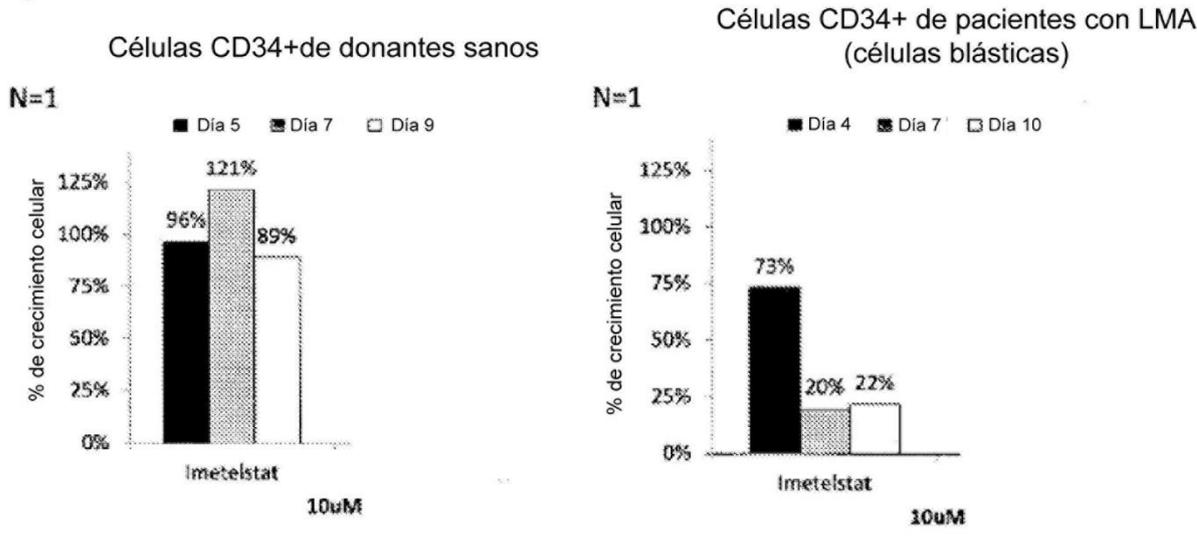


Figura 6



# PMF, 52 años; hombre

Figura 7

