

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 752 179**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/21</b>	(2006.01) <b>A61K 31/24</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/22</b>	(2006.01) <b>A61K 45/06</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/23</b>	(2006.01) <b>A61P 7/06</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/231</b>	(2006.01) <b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/675</b>	(2006.01)	
<b>A61K 31/704</b>	(2006.01)	
<b>A61K 31/7048</b>	(2006.01)	
<b>A61K 31/185</b>	(2006.01)	
<b>A61K 31/138</b>	(2006.01)	
<b>A61K 31/454</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.05.2015 PCT/US2015/031204**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **19.11.2015 WO15176012**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2015 E 15793591 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 3142657**

54 Título: **Métodos para tratar neutropenia**

30 Prioridad:

15.05.2014 US 201461993774 P  
 15.05.2014 US 201461993784 P  
 27.06.2014 US 201462018528 P  
 27.06.2014 US 201462018530 P  
 24.11.2014 US 201462083739 P  
 24.11.2014 US 201462083749 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.04.2020**

73 Titular/es:

**ENZYCHEM LIFESCIENCES CORPORATION**  
**(100.0%)**  
**15F, Trust Tower, 60, Mabang-ro, Seocho-gu**  
**Seoul 137-739, KR**

72 Inventor/es:

**HAN, YONG-HAE;**  
**CHONG, SAEHO;**  
**SOHN, KI-YOUNG;**  
**KIM, MYUNG-HWAN y**  
**KIM, JAE WHA**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 752 179 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

Métodos para tratar neutropenia

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

Esta solicitud reivindica prioridad de la Patente Provisional 61/993774 de Estados Unidos, presentada el 15 de mayo de 2014, la Patente Provisional de Estados Unidos 61/993784, presentada el 15 de mayo de 2014, la Patente Provisional de Estados Unidos 62/018528 presentada el 27 de junio de 2014, la Patente Provisional de Estados Unidos 62/018530 presentada el 27 de junio de 2014, la Patente Provisional de Estados Unidos 62/083739 presentada el 24 de noviembre de 2014 y la Patente Provisional de Estados Unidos 62/083749 presentada el 24 de noviembre de 2014.

**Campo**

15 La divulgación también se refiere un método para tratar, controlar o mitigar la leucopenia y/o la trombocitopenia, por ejemplo en el contexto de la quimioterapia contra el cáncer, que comprende la administración de un compuesto de monoacetil-diacil-glicerol, así como composiciones útiles para el mismo. La invención se define por las reivindicaciones.

20 **Antecedentes**

Durante la hematopoyesis, las células madre hematopoyéticas (HSC, por sus siglas en inglés) en la médula ósea se diferencian en precursores linfocitarios comunes (CLP, por sus siglas en inglés) y precursores mieloides comunes (CMP, por sus siglas en inglés). Los CMP se diferencian en células de linaje mieloides, tales como eritrocitos, megacariocitos/plaquetas, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, macrófagos y células dendríticas. Los CLP dan lugar a células de linaje linfocitario, como linfocitos T, linfocitos B, y linfocitos NK.

Funcionalmente, las células sanguíneas comprenden glóbulos rojos, que suministran oxígeno a los tejidos, plaquetas, que controlan la coagulación, y leucocitos, que protegen contra enfermedades infecciosas y sustancias extrañas. Los leucocitos (glóbulos blancos) incluyen los glóbulos blancos de linaje mieloides, tales como neutrófilos, eosinófilos, basófilos y monocitos, así como los linfocitos, tales como los linfocitos T y los linfocitos B. Hay alrededor de 4.000-10.000 leucocitos por 1  $\mu$ l de sangre. La población de leucocitos generalmente está compuesta por un 50-60 % de neutrófilos, un 1-6 % de eosinófilos, menos de un 1 % de basófilos, un 2-10 % de monocitos y un 20-30 % de linfocitos. Sin embargo, el nivel y la composición de los leucocitos pueden variar ampliamente entre individuos o en el mismo individuo a lo largo del tiempo, dependiendo de factores tales como la condición física y el estado de inflamación.

Si se suprime la diferenciación de HSC en células CMP, la concentración de leucocitos en la sangre disminuirá por debajo del intervalo normal, provocando leucopenia. La leucopenia puede ser provocada por una infección bacteriana o, con frecuencia, vírica. Sin embargo, la leucopenia también puede ser provocada por anemia aplásica, leucemia, síndrome mielodisplásico (SMD) u otros trastornos de la médula ósea. Si bien la leucopenia leve solo dará como resultado una deficiencia menor en la respuesta inmunitaria, la leucopenia grave incluso puede provocar sepsis.

Como los neutrófilos son los leucocitos más abundantes, la leucopenia generalmente implica neutropenia. Los neutrófilos sirven como la defensa principal contra las infecciones al destruir las bacterias en la sangre. Los pacientes con neutropenia son más susceptibles a las infecciones bacterianas y son vulnerables a la sepsis potencialmente letal si la afección no se controla. El recuento absoluto de neutrófilos (ANC, por sus siglas en inglés) varía según la edad y el sexo, con un intervalo normal en adultos de 1500 a 8000 células por microlitro ( $\mu$ l) de sangre, aunque el ANC en adultos sanos es generalmente  $> 2500$  células/ $\mu$ l.  $ANC < 500$  células/ $\mu$ l se considera grave y es una afección muy peligrosa, que se correlaciona con un alto riesgo de infección grave. La neutropenia se puede provocar por muchas cosas, por ejemplo, cáncer u otras enfermedades que dañan la médula ósea, trastornos congénitos caracterizados por una función deficiente de la médula ósea, infecciones víricas que interrumpen la función de la médula ósea, trastornos autoinmunitarios que destruyen los neutrófilos o las células de la médula ósea, infecciones abrumadoras que agotan los neutrófilos más rápido de lo que pueden producirse, o fármacos que destruyen los neutrófilos o dañan la médula ósea. Muchos fármacos contra el cáncer y la radioterapia para el cáncer pueden provocar supresión directa de la médula ósea dependiente de la dosis. Otros fármacos contra el cáncer incitan la destrucción mediada por el sistema inmunitario de las células progenitoras dentro del compartimento de la médula ósea y, en algunos casos, aumentan la destrucción o la eliminación de los neutrófilos periféricos.

Varias citocinas están involucradas en la hematopoyesis. El factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF o GCSF), también conocido como factor estimulante de colonias 3 (CSF 3), es una glucoproteína que estimula las células precursoras hematopoyéticas en la médula ósea para que proliferen y se diferencien en granulocitos maduros y células madre y se liberen al torrente sanguíneo. También produce la liberación de células madre hematopoyéticas (HSC) de la médula ósea al torrente sanguíneo, aunque no estimula específicamente estas células. En seres humanos, existe en dos formas activas, la más abundante de ellas tiene 174 aminoácidos de longitud; la otra tiene 177 aminoácidos de longitud. Los análogos farmacéuticos de G-CSF de origen natural son formas recombinantes del péptido humano de 174 aminoácidos (rhG-CSF) e incluyen:

- filgrastim (por ejemplo, Neupogen® de Amgen), que se produce en *E. coli*, que tiene la misma actividad, pero que difiere de la glucoproteína natural en que tiene un resto de metionina N-terminal y carece de glucosilación;
  - lenograstim (p. ej., Granocyte® de Chugai), que se produce en células de mamíferos (Células de Ovario de Hámster Chino (CHO)), por lo que es esencialmente indistinguible del G-CSF humano;
  - pegfilgrastim, una forma PEGilada de filgrastim, (por ejemplo, Neulasta® de Amgen y Neulastim® de Roche), que tiene un resto monometoxipoli-etilenglicol de 20 kD unido covalentemente al resto de metionilo N-terminal de filgrastim, que aumenta la solubilidad y la duración de la acción en comparación con filgrastim.
- Estos fármacos están aprobados en los EE. UU. y en muchos otros países para tratar y mitigar la neutropenia, principalmente en pacientes con cáncer que reciben quimioterapia, por ejemplo, para una o más de las siguientes indicaciones
- para disminuir la incidencia de infección, como se manifiesta por neutropenia febril, en pacientes con neoplasias no mieloides que reciben fármacos contra el cáncer mielosupresores asociados a una incidencia clínicamente significativa de neutropenia febril;
  - para reducir el tiempo de recuperación de neutrófilos y la duración de la fiebre, después del tratamiento de quimioterapia de inducción o consolidación de adultos con linfoma mieloides agudo;
  - para reducir la duración de la neutropenia y las secuelas clínicas relacionadas con la neutropenia, por ejemplo, neutropenia febril en pacientes con neoplasias no mieloides sometidas a quimioterapia mieloablativa seguida de trasplante de médula ósea;
  - para movilizar células progenitoras hematopoyéticas en la sangre periférica para su recolección por leucoféresis, que, a continuación, se puede trasplantar al paciente después de la quimioterapia mieloablativa, lo que puede dar como resultado una disminución de la necesidad de atención de apoyo;
  - para reducir la incidencia y la duración de las secuelas de la neutropenia (p. ej., fiebre, infecciones, úlceras orofaríngeas) en pacientes sintomáticos con neutropenia congénita, neutropenia cíclica o neutropenia idiopática.

Neupogen® generalmente se administra a dosis de 4 a 8 mcg/kg/día, hasta 10 mcg/kg/día. Se han administrado dosis más altas, hasta 138 mcg/kg/día sin efectos tóxicos, pero hay un aplanamiento de la curva de dosis respuesta por encima de las dosis diarias de más de 10 mcg/kg/día. Los efectos secundarios de Neupogen® y otras formas de G-CSF pueden incluir dolor óseo leve a moderado después de la administración repetida, reacciones locales de la piel en el lugar de la inyección, reacciones alérgicas, bazo agrandado o roto, hemorragia alveolar, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS, por sus siglas en inglés), hemoptisis y (en pacientes con trastornos de células falciformes preexistentes) crisis de células falciformes. Los fármacos G-CSF generalmente no se administran en pacientes con leucemia mielógena crónica (CML, por sus siglas en inglés) o síndrome mielodisplásico, ya que podrían estimular el crecimiento de células cancerosas.

Las plaquetas, también denominadas trombocitos, son células sanguíneas incoloras que ayudan a que la sangre se coagule. Los recuentos normales de plaquetas humanas oscilan entre 130.000-400.000 plaquetas por microlitro (µl) de sangre. Como en el caso de la neutropenia, si se suprime la diferenciación de HSC en CMP, o si se destruyen las plaquetas, por ejemplo, como resultado de una enfermedad autoinmunitaria, la concentración de plaquetas en la sangre puede caer por debajo de los intervalos normales (trombocitopenia). Un recuento de plaquetas de <50.000 plaquetas/µl de sangre se considera una afección grave, y con un recuento de <20.000 plaquetas/µl de sangre, puede producirse espontáneamente una hemorragia interna potencialmente mortal. La trombocitopenia tiene pocos síntomas hasta que el recuento de plaquetas es extremadamente bajo, cuando el daño a la coagulación se evidencia por hematomas espontáneos, hematomas después de un trauma muy leve, petequias (manchas rojas o moradas en la piel provocadas por pequeñas hemorragias en la piel y las membranas mucosas), y sangrado excesivo por cortes menores, hemorragias nasales o cepillarse los dientes. Otros síntomas pueden incluir malestar, fatiga y debilidad general (con o sin pérdida de sangre). La trombocitopenia se puede provocar, por ejemplo, por una infección bacteriana o vírica, cirrosis, quimioterapia o radioterapia, leucemia aguda, anemia aplásica o afecciones autoinmunitarias, o puede ser un efecto secundario de diferentes medicamentos. Al igual que la neutropenia, la trombocitopenia es un efecto secundario frecuente de la quimioterapia o la radioterapia para el cáncer.

La trombocitopenia puede provocar, exacerbar o ser comórbido con anemia. La anemia se puede provocar por sangrado activo, por ejemplo, por sangrado menstrual abundante, heridas, úlceras gastrointestinales o cánceres tales como el cáncer de colon que puede supurar sangre lentamente, y dicho sangrado se puede provocar o agravar por trombocitopenia. La anemia también es común en pacientes que padecen enfermedades crónicas, mala nutrición e insuficiencia renal, todo lo cual puede ocurrir en pacientes con cáncer que reciben quimioterapia o radioterapia.

El mieloma múltiple (MM) es un cáncer de células plasmáticas, que produce anticuerpos. El mieloma previene la producción normal de anticuerpos, dejando el sistema inmunitario debilitado y el paciente susceptible a la infección, al tiempo que produce anticuerpos defectuosos que pueden provocar daño renal. La multiplicación de las células de mieloma también interfiere con la producción y función normales de los glóbulos rojos y blancos, y las células de mieloma comúnmente producen sustancias que provocan destrucción ósea, conduciendo a dolor y/o fracturas óseas. El mieloma múltiple está específicamente estimulado por G-CSF. La leucemia mieloides aguda (AML, por sus siglas en inglés), también conocida como leucemia mielógena aguda o leucemia no linfocítica aguda (ANLL, por sus siglas en

inglés), es un cáncer de la línea mieloide de células sanguíneas, que se caracteriza por el rápido crecimiento de glóbulos blancos anormales que se acumulan en la médula ósea e interfieren con la producción de células sanguíneas normales. La AML es la leucemia aguda más común que afecta a los adultos. Los síndromes mielodisplásicos (también conocidos como MDS o mielodisplasia) se caracterizan por una producción ineficaz (o displasia) de la clase de células sanguíneas mieloides. Los pacientes con MDS pueden desarrollar anemia grave y requieren transfusiones de sangre. En algunos casos, la enfermedad empeora y el paciente desarrolla citopenias provocadas por insuficiencia progresiva de la médula ósea. La leucemia mielógena crónica (CML) es una forma de leucemia caracterizada por el aumento y el crecimiento no regulado de células predominantemente mieloides en la médula ósea y la acumulación de estas células en la sangre. La CML es un trastorno clonal de células madre de médula ósea en el que se encuentra una proliferación de granulocitos maduros (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y sus precursores.

Los tumores malignos de la médula ósea, tal como MM, AML, MDS y CML, se pueden producir o estimular por el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). Si bien en algunos casos, el G-CSF se ha utilizado deliberadamente para estimular la proliferación de células cancerosas en este tipo de cánceres, con el fin de mejorar su susceptibilidad a los agentes quimioterapéuticos (que generalmente se dirigen a las células en proliferación), generalmente, los fármacos G-CFS recombinantes (p. ej., filgrastim, lenograstim o pegfilgrastim) no son una buena opción para tratar la neutropenia inducida por quimioterapia en pacientes que se recuperan de estos tipos de cáncer.

Por ejemplo, la lenalidomida (Revlimid®) es un derivado de la talidomida, utilizada para tratar mieloma múltiple, síndromes mielodisplásicos y otros tipos de cáncer. La lenalidomida ha mejorado significativamente la supervivencia general en mieloma (que generalmente tiene un mal pronóstico), pero el fármaco es bastante tóxico. La mielosupresión que conduce a neutropenia y trombocitopenia graves, es la principal toxicidad limitante de la dosis.

Se necesitan nuevos enfoques para el tratamiento y manejo de la neutropenia y la trombocitopenia, por ejemplo, para permitir una quimioterapia más agresiva a dosis más altas y/o por más tiempo de lo que actualmente es seguro, y particularmente en pacientes con cánceres inducibles por G-CSF, cuya neutropenia no puede gestionarse con G-CSF.

La cornamenta de los ciervos es una medicina tradicional asiática, preparada mediante el secado de la cornamenta de un ciervo sin cornificar. La cornamenta de los ciervos ha sido aclamada por tener diferentes efectos médicos, tal como efectos que promueven el crecimiento y el desarrollo, promueven la función hematopoyética, tratan el colapso nervioso, son beneficiosos para la insuficiencia cardíaca, mejoran la función de cinco vísceras y seis entrañas, tal como se describe en Dong-eui Bogam, un libro médico Coreano, publicado por primera vez en 1613. Se ha indicado que ciertos componentes de la cornamenta de los ciervos, incluidos rac-1-palmitoil-2-linoleoil-3-acetilglicerol (PLAG) obtenidos de extractos de cloroformo de la cornamenta de los ciervos, tienen actividades estimuladoras del crecimiento de células madre hematopoyéticas y megacariocitos (WO 99/26640).

El documento WO 99/26640 se refiere a "una composición farmacéutica que tiene efectos estimulantes del crecimiento sobre células madre hematopoyéticas y megacariocitos, que contiene un extracto específico o cornamentas de Cervus nippon, especialmente un extracto de cloroformo de cornamentas de Cervus nippon".

También se informa que los derivados de monoacetildiácilglicerol que son componentes activos de las cornamentas de los ciervos son eficaces en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias, sepsis, cánceres tales como cáncer de vías biliares, cáncer de riñón o melanoma maligno y así sucesivamente. (WO 2005/112912).

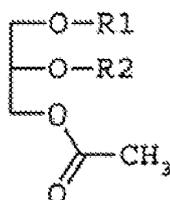
#### 45 **Breve resumen de la divulgación**

La presente invención es como se define en las reivindicaciones. Sorprendentemente, se ha descubierto que los monoacetildiácilgliceroles divulgados en el presente documento, particularmente PLAG, estimulan la producción de neutrófilos por un mecanismo diferente del G-CSF, mejoran la producción de plaquetas y reducen la migración de neutrófilos fuera de la sangre. Por lo tanto, estos compuestos son útiles para ayudar a tratar y mitigar la neutropenia y/o la trombocitopenia, por ejemplo, cuando están provocadas por agentes quimioterapéuticos como lenalidomida, particularmente en pacientes que padecen cánceres que pueden ser inducidos o exacerbados por G-CSF. Los monoacetildiácilgliceroles descritos en el presente documento, particularmente PLAG, ayudan además a prevenir la metástasis de cánceres de sangre como estos al reducir la migración de células cancerosas de la sangre a los ganglios linfáticos. Los monoacetildiácilgliceroles descritos en el presente documento también reducen la actividad del complemento y, por lo tanto, son útiles para proteger contra el agotamiento de plaquetas mediado por el complemento, por ejemplo, provocado por una afección autoinmunitaria.

La presente invención se limita a la materia objeto cubierta por las reivindicaciones. La materia objeto descrita o divulgada en el presente documento que no está cubierta por las reivindicaciones no es parte de la invención.

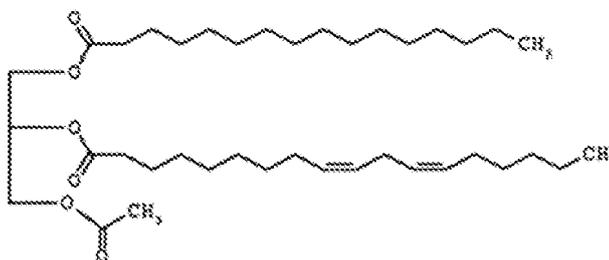
La presente divulgación muestra que el monoacetildiácilglicerol de Fórmula 1 descrito en el presente documento, particularmente, PLAG de Fórmula 2, es eficaz para la prevención y el tratamiento de trombocitopenia y leucopenia, por ejemplo, neutropenia, al mejorar la diferenciación y propagación de HSC en CMP y suprimir la actividad del Complemento:

[Fórmula 1]



5 en la que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son independientemente un resto de ácido graso de 14 a 22 átomos de carbono, por ejemplo:

[Formula 2 (PLAG)]



10 En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos para tratar, (p.ej., inhibir, reducir, controlar, mitigar o revertir) una afección seleccionada de leucopenia (por ejemplo, neutropenia) y/o trombocitopenia, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula 1, por ejemplo, PLAG, a un paciente que lo necesite. El término "realización" tal como se usa en el presente documento y en lo sucesivo, en el presente documento, no significa necesariamente que la materia objeto divulgada en la misma sea parte de la invención.

20 En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos para prevenir o suprimir el Complemento 3 regulado o activado (C3), que comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula 1, por ejemplo, PLAG, a un sujeto que lo necesite.

25 En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos para tratar, controlar o mitigar la leucopenia y mejorar la inmunidad innata, que comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula 1, por ejemplo, PLAG, a un sujeto que lo necesite aumentando la proporción de glóbulos blancos del linaje mielóide, tal como neutrófilos, eosinófilos, monocitos y, al mismo tiempo, reducir los linfocitos, que son inmunocitos.

30 En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos para tratar cáncer que comprenden administrar a un paciente que lo necesite un agente quimioterapéutico, junto con una cantidad protectora de neutrófilos o plaquetas de un compuesto de fórmula 1, por ejemplo, PLAG, en donde el agente quimioterapéutico es administrado a una dosis y/o durante un período de tiempo que provocaría neutropenia y/o trombocitopenia en el paciente si el paciente no recibiera el compuesto de fórmula 1.

35 La presente divulgación proporciona, en algunas realizaciones, métodos para tratar, controlar o mitigar la neutropenia y/o la trombocitopenia en pacientes que reciben un agente quimioterapéutico, por ejemplo, lenalidomida, para tratar un cáncer que es estimulado por G-CSF (p.ej., mieloma múltiple, leucemia mielóide aguda, leucemia mielógena crónica o síndrome mielodisplásico), comprendiendo el método la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula 1, por ejemplo, PLAG, a un paciente que lo necesite.

40 En algunas realizaciones, la divulgación proporciona métodos para tratar un cáncer hematológico, por ejemplo, seleccionado de (p.ej., mieloma múltiple, leucemia mielóide aguda, leucemia mielógena crónica o síndrome mielodisplásico), por ejemplo, un cáncer hematológico que se puede producir o agravar por G-CSF, que comprende coadministrar (secuencial o simultáneamente) un agente quimioterapéutico, por ejemplo, lenalidomida y un compuesto de fórmula 1.

45 En algunas realizaciones, la divulgación proporciona un método para el tratamiento (que incluye profilaxis) de neutropenia y/o para movilizar células progenitoras de sangre periférica (PBPC, por sus siglas en inglés), que comprende administrar (secuencial o simultáneamente) una cantidad eficaz de (i) un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, y (ii) un G-CSF, por ejemplo, seleccionado de filgrastim, pegfilgrastim y lenograstim, a un paciente que lo necesite.

50

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona un método para mitigar o tratar los efectos secundarios de G-CSF, por ejemplo, trombocitopenia y/o dolor óseo inducido por G-CSF, que comprende la administración conjunta, secuencial o simultáneamente, de un compuesto de fórmula 1, por ejemplo, FLAG, a un paciente que lo necesite.

- 5 En otra realización, la divulgación proporciona un método para tratar la anemia que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula 1, especialmente PLAG, a un paciente que lo necesite. Debido a que los compuestos de fórmula 1 promueven la diferenciación de HSC a CMP, expandiendo así las células del linaje mieloide, son útiles para potenciar la producción de eritrocitos y, al mismo tiempo, al potenciar el número de plaquetas, reducen el sangrado crónico, por ejemplo, de las úlceras de estómago o del flujo menstrual excesivo, debido al bajo recuento de plaquetas, lo que potencia y preserva los eritrocitos y reduce la anemia.

Además, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica, incluyendo un alimento saludable funcional, que comprende un compuesto de fórmula 1, para prevenir o mejorar la leucopenia o trombocitopenia.

- 15 La divulgación proporciona además los compuestos de fórmula 1 y composiciones farmacéuticas que comprenden composiciones de fórmula 1, para su uso en los métodos como se describe, y para su uso en la fabricación de medicamentos para su uso en los métodos como se describe.

- 20 En una realización, la divulgación proporciona un nuevo producto farmacológico de dosis unitarias farmacéutico, en forma de una cápsula de gelatina blanda para administración oral que contiene 250-1000 mg, por ejemplo, 500 mg, de sustancia farmacológica PLAG, sustancialmente libre de otros triglicéridos, junto con 0,1 - 3 mg, p.ej., 1 mg de un compuesto de tocoferol farmacéuticamente aceptable, por ejemplo,  $\alpha$ -tocoferol, como antioxidante, por ejemplo, para administración una o dos veces al día, a una dosis diaria de 500 mg a 4.000 mg.

- 25 Otras áreas de aplicabilidad de la divulgación serán evidentes a partir de la descripción detallada y los ejemplos proporcionados a continuación en el presente documento.

#### Breve descripción de los dibujos

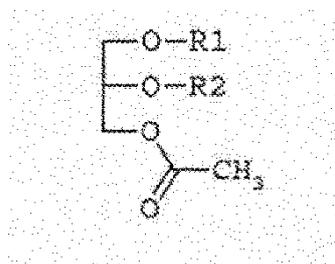
- 30 La Figura 1 representa un ensayo indicador de la actividad transcripcional de STAT1 y STAT6 en células HepG2 tratadas con FLAG.  
 La Figura 2 representa la inhibición del complemento 3 por PLAG en células HMC-1  
 La Figura 3A confirma que PLAG no afecta la propagación celular y la muerte en el ensayo WST-1 en una línea celular HepG2. La Figura 3B muestra que la expresión de C3 disminuye de forma dependiente de la dosis mediante la administración de PLAG. La Figura 3C muestra que se obtiene un resultado similar mediante la administración de S6I.  
 La Figura 4 representa los efectos protectores de neutrófilos de PLAG contra tres agentes quimioterapéuticos en un modelo de ratón.  
 La Figura 5 representa los efectos protectores de plaquetas de PLAG contra tres agentes quimioterapéuticos en un modelo de ratón.  
 La Figura 6 representa los efectos de activación del complemento 3 de tres agentes quimioterapéuticos en un modelo de ratón, y el bloqueo de estos efectos por PLAG.  
 La Figura 7 muestra los resultados de un ensayo clínico sobre la actividad de PLAG sobre el Complemento 3.  
 La Figura 8 representa la trombocitopenia inducida por fármacos de quimioterapia (CIN) inhibida por el tratamiento con PLAG en un ensayo clínico.  
 La Figura 9 muestra la neutropenia inducida por fármacos de quimioterapia (CIN) inhibida por el tratamiento con PLAG en un ensayo clínico.

#### Descripción detallada

- 50 Las composiciones de la presente divulgación para tratar la trombocitopenia y/o leucopenia incluyen derivados de glicerol que tienen un grupo acetilo y dos grupos acilo de la siguiente Fórmula 1:

[Fórmula 1]

55

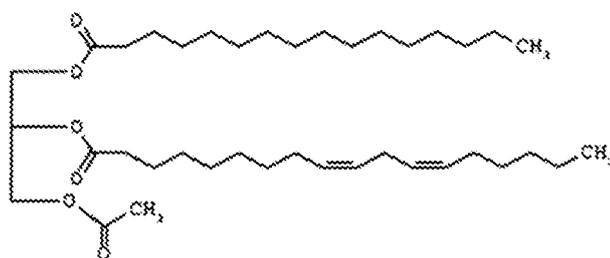


en la que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son independientemente un resto de ácido graso de 14 a 22 átomos de carbono.

En la presente divulgación, los derivados de glicerol de Fórmula 1 a veces se denominan monoacetildiacilglicérols (MDAG). El resto de ácido graso se refiere al resto acilo resultante de la formación de un enlace éster por reacción de un ácido graso y un alcohol. Ejemplos no limitantes de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>, por lo tanto, incluyen palmitoilo, oleoilo, linoleoilo, linoleoilo, estearoilo, miristoilo, araquidonoilo y así sucesivamente. Las combinaciones preferidas de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> (R<sub>1</sub>/R<sub>2</sub>) incluyen oleoilo/palmitoilo, palmitoilo/oleoilo, palmitoilo/linoleoilo, palmitoilo/araquidonoilo, palmitoilo/estearoilo, palmitoilo/palmitoilo, oleoilo/estearoilo, linoleoilo/palmitoilo, linoleoilo/estearoilo, estearoilo/linoleoilo, estearoilo/oleoilo, miristoilo/linoleoilo, miristoilo/oleoilo, y así sucesivamente. En actividad óptica, los derivados de monoacetildiacilglicerol de Fórmula 1 pueden ser de forma (R), de forma (S) o una mezcla racémica, y pueden incluir sus estereoisómeros. Cuando los sustituyentes R<sub>1</sub> y/o R<sub>2</sub> son restos de ácidos grasos insaturados, los enlaces dobles pueden tener la configuración *cis*.

En una realización, el monoacetildiacilglicerol es un compuesto de la siguiente Fórmula 2:

[Fórmula 2]



El compuesto de Fórmula 2 es 1-palmitoil-2-linoleoil-3-acetilglicerol, a veces denominado "PLAG" en esta memoria descriptiva. R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> del compuesto de Fórmula 2 son palmitoilo y linoleoilo, respectivamente. El carbono 2 en el resto de glicerol es quiral. PLAG generalmente se proporciona como el racemato, y los enantiómeros R y S parecen tener la misma actividad. Se sabe que PLAG de Fórmula 2 aumenta la proporción de supervivencia de los animales en un experimento de modelo sepsis en animales usando punción de ligadura cecal, y no muestra toxicidad en una prueba de toxicidad GLP (Good Laboratory Practice). Sin embargo, el efecto de los compuestos de monoacetildiacilglicerol, incluido PLAG, sobre la trombocitopenia y la leucopenia, especialmente sobre la neutropenia, y el efecto del compuesto de monoacetildiacilglicerol en combinación con fármacos G-CSF no se conoce ni se divulga en las técnicas anteriores.

Los compuestos de monoacetildiacilglicerol pueden separarse y extraerse de la cornamenta de ciervo natural o pueden producirse mediante métodos convencionales de síntesis orgánica. Más específicamente, la cornamenta de ciervo se extrae con hexano, seguido de la extracción del resto con cloroformo y la eliminación del cloroformo para proporcionar extractos de cloroformo. El volumen de los disolventes para esta extracción es justo lo suficiente para sumergir la cornamenta de ciervo. En general, se utilizan aproximadamente 4-5 litros de hexano y/o cloroformo por 1 kg de cornamenta de ciervo, pero sin limitarse a los mismos. Los extractos obtenidos por este método se fraccionan y purifican adicionalmente usando una serie de cromatografía en columna de gel de sílice y un método de TLC para obtener el compuesto de monoacetildiacilglicerol. Se selecciona un disolvente para la extracción entre cloroformo/metanol, hexano/acetato de etilo/ácido acético, pero sin limitarse a los mismos.

Un método químico sintético para la preparación de compuestos de monoacetildiacilglicerol se muestra, por ejemplo, en las Patentes Coreanas Registradas número 10-0789323 y número 10-1278874. Por ejemplo, PLAG se puede sintetizar acilando los grupos hidroxilo de glicerina con grupos funcionales acetilo, palmitoilo y linoleoilo. El producto final es similar al componente natural identificado y aislado de las cornamentas de ciervos. Ambos son racematos.

En la presente divulgación, el término "tratamiento" o "tratar" abarca profilaxis, reducción, mejora o eliminación de la afección a tratar, por ejemplo, supresión o retraso del inicio de trombocitopenia y leucopenia por la administración de la composición farmacéutica de la presente divulgación (a veces denominado prevención), además de mejorar la trombocitopenia y la leucopenia o cambiar los síntomas de la trombocitopenia y la leucopenia a estados más beneficiosos.

Los estudios de farmacología *in vitro* en líneas celulares muestran que PLAG es capaz de inhibir la vía PKC $\theta$ /p38/ERK, que está implicada en la maduración de las células progenitoras linfoides a partir de HSC. Además, la inducción *in vitro* del aumento de la formación de colonias se muestra en HSC derivadas de médula ósea. Además, PLAG inhibe la expresión del complemento C3 en células HMC-1 humanas. Se ha demostrado que PLAG *in vivo* aumenta la formación de ganglios en bazos de ratones irradiados trasplantados con HSC singénicas. La administración de PLAG previene la neutropenia inducida por el agente citotóxico y mejora la tasa de supervivencia en ratones tratados con tamoxifeno.

Los compuestos de monoacetildiacilglicerol, especialmente PLAG, promueve la diferenciación de células madre hematopoyéticas (HSC) en precursores mieloides comunes (CMP), que es un precursor de (i) megacariocitos que se diferencian en plaquetas y (ii) mieloblastos que se diferencian en neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, etc., en lugar de un precursor linfocitario común (CLP), lo que aumenta la proporción de macrófagos, tales como neutrófilos, eosinófilos, monocitos, etc., y reduce los linfocitos producidos en exceso. Previenen y tratan la leucopenia, y más específicamente previenen, reducen o tratan la neutropenia para potenciar la inmunidad innata.

Además de aumentar la formación de colonias y activar la diferenciación de HSC en células mieloides (tales como neutrófilos y megacariocitos), los compuestos de monoacetildiacilglicerol, especialmente PLAG, reducen la activación del complemento. Los informes publicados sobre el papel de un mecanismo dependiente del complemento en la neutropenia producida por fármacos y el papel de los neutrófilos en la inflamación vascular y la respuesta a la sepsis sugieren que la activación del complemento puede estar implicada en la trombocitopenia y la leucopenia inducidas por quimioterapia. Sin quedar ligados a teoría alguna, se cree que los compuestos suprimen C3 al inhibir la actividad de STAT6, que puede ser regulada positivamente o activada por quimioterapia. Un inhibidor de STAT6 bloquearía la transducción de la señal de STAT6 en la célula mediante IL-4, lo que a su vez suprimiría la expresión de C3.

La reducción selectiva de la actividad del complemento utilizando los compuestos de monoacetildiacilglicerol de fórmula 1, especialmente PLAG, contribuye así a su eficacia contra la neutropenia y la trombocitopenia inducidas por quimioterapia. La reducción de la actividad del complemento potencia adicionalmente el tratamiento de la neutropenia al reducir la salida de neutrófilos inducida por el complemento de la circulación. También potencia el tratamiento de la trombocitopenia al reducir la destrucción de plaquetas mediada por el complemento, por ejemplo en la trombocitopenia autoinmunitaria.

Los compuestos de monoacetildiacilglicerol de fórmula 1, particularmente PLAG, estimulan la producción de neutrófilos por un mecanismo diferente del G-CSF y, por lo tanto, pueden potenciar los efectos de los fármacos G-CSF como filgrastim, pegfilgrastim y lenograstim en el tratamiento o la mitigación de la neutropenia y/o la movilización de células progenitoras de sangre periférica (PBPC) en un grado no alcanzable mediante la administración de G-CSF solo. El compuesto de monoacetildiacilglicerol también puede en algunos casos mitigar los efectos secundarios de G-CSF, por ejemplo, al mejorar la producción de plaquetas y al reducir el dolor óseo asociado a la administración de G-CSF. Por consiguiente, la divulgación proporciona un método para tratar la neutropenia y/o movilizar PBPC, que comprende la administración de un monoacetildiacilglicerol, por ejemplo, PLAG, a un paciente que lo necesite, simultáneamente, secuencialmente o en combinación con un factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). El paciente puede, por ejemplo, ser un paciente con cáncer que recibe quimioterapia y/o radioterapia, u otro paciente que padece o está en riesgo de neutropenia, y el monoacetildiacilglicerol, por ejemplo, PLAG, puede administrarse durante y/o después de la quimioterapia y/o tratamiento de radiación, para tratar la neutropenia resultante, y/o se puede administrar antes, para ayudar a mitigar los efectos de dicho tratamiento, o para movilizar células progenitoras hematopoyéticas en la sangre periférica para su recolección por leucoféresis, y su uso posterior para rescatar al paciente después de la quimioterapia mieloablativa.

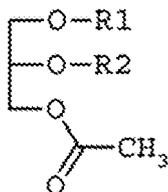
Los monoacetildiacilgliceroles de fórmula 1, particularmente PLAG, estimulan la producción de neutrófilos por un mecanismo diferente de G-CSF. Debido a que los compuestos de fórmula 1, por ejemplo, PLAG, potencian los niveles de plaquetas así como los niveles de neutrófilos, se puede plantear la hipótesis de que promueven la proliferación y diferenciación aguas arriba de G-CSF. Además, los compuestos de fórmula 1, por ejemplo, PLAG, reducen la activación del complemento, reducen la salida de neutrófilos a los ganglios linfáticos después de la estimulación inflamatoria y reducen la destrucción de plaquetas, actividades, todas ellas, diferentes de G-CSF.

Por lo tanto, los compuestos de fórmula 1, particularmente PLAG, puede ayudar a mitigar la neutropenia y la trombocitopenia, causadas por agentes quimioterapéuticos tal como la lenalidomida, particularmente en pacientes que no pueden usar G-CSF, por ejemplo, pacientes que padecen cánceres que se pueden producir o agravar por G-CSF. Como los compuestos de fórmula 1, particularmente PLAG, no compiten con G-CSF, sino que aumentan los efectos de G-CSF, se pueden usar en combinación con G-CSF para proporcionar un nivel de eficacia que no se puede lograr con G-CSF solo o para reducir el nivel de G-CSF necesario para la eficacia, por ejemplo, en pacientes que experimentan efectos secundarios de G-CSF.

Los compuestos de fórmula 1, particularmente PLAG, ayudan además a prevenir la metástasis de cánceres de sangre como estos al reducir la migración de células cancerosas de la sangre a los ganglios linfáticos. Como se describe en los ejemplos, cuando se inyecta a los ratones con lipopolisacárido (LPS) para provocar una respuesta inmunitaria, en presencia o ausencia de PLAG, en los ratones tratados con LPS y PLAG, la concentración de neutrófilos aumenta, mientras que los niveles de neutrófilos en la linfa son más bajos, en comparación con el control de LPS solo. Esto muestra que mientras PLAG potencia los niveles de neutrófilos en la sangre, también inhibe la migración a los ganglios linfáticos.

La composición farmacéutica que comprende monoacetildiacilgliceroles puede consistir en derivados de monoacetildiacilglicerol solos o sustancialmente puros de Fórmula 1, o puede incluir componentes activos (derivados de monoacetildiacilglicerol de Fórmula 1) y vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables convencionales. La cantidad de monoacetildiacilglicerol en la composición farmacéutica puede variar ampliamente sin

- limitación específica, y es específicamente del 0,0001 al 100 % en peso, por ejemplo, del 0,001 al 50 % en peso, del 0,01 al 20 % en peso, o del 95-99 % en peso con respecto al total cantidad de la composición. La composición farmacéutica puede formularse en una forma sólida, líquida, en gel o en suspensión para administración oral o no oral, por ejemplo, comprimido, bolo, polvo, gránulo, cápsula tal como cápsula de gelatina dura o blanda, emulsión, suspensión, jarabe, concentrado emulsionable, solución acuosa esterilizada, solución no acuosa, formulación liofilizada, supositorio y así sucesivamente. Al formular la composición, se pueden usar excipientes o diluyentes convencionales, tales como la carga, agente de carga, aglutinante, agente humectante, agente disgregante y tensioactivos. Las formulaciones sólidas para administración oral incluyen comprimido, bolo, polvo, gránulo, cápsula, etcétera, y la formulación sólida se puede preparar mezclando uno o más de los componentes activos y al menos un excipiente tal como almidón, carbonato de calcio, sacarosa, lactosa, gelatina, etcétera. Además del excipiente, también se puede usar un lubricante tal como estearato de magnesio y talco. Las formulaciones líquidas para administración oral incluyen emulsión, suspensión, jarabe, etc., y puede incluir diluyentes convencionales tales como agua y parafina líquida o puede incluir diferentes excipientes tales como un agente humectante, agente edulcorante, agente aromatizantes y agente conservante. La formulación para administración no oral incluye solución acuosa esterilizada, solución no acuosa, formulación liofilizada, supositorios, etc., y el disolvente para dicha solución puede incluir propilenglicol, polietilenglicol, aceite vegetal tal como el aceite de oliva y éster para inyección con jeringa tales como oleato de etilo. Los materiales base del supositorio pueden incluir witepsol, macrogol, tween 61, manteca de cacao, Laurina y glicerogelatina.
- El compuesto de monoacetildiacilglicerol se puede administrar en una cantidad farmacéuticamente eficaz. La expresión "cantidad farmacéuticamente eficaz" se usa para referirse a una cantidad que es suficiente para lograr un resultado deseado en un tratamiento médico. La "cantidad farmacéuticamente eficaz" se puede determinar de acuerdo con la categoría del sujeto, edad, sexo, gravedad y tipo de enfermedad, actividad del fármaco, sensibilidad al fármaco, momento de administración, vía de administración, tasa de excreción, etc.
- El término "tratamiento" o "tratar" incluye profilaxis, mitigación, mejoría, retraso o reducción de los síntomas, así como la eliminación parcial o completa o la prevención de los síntomas, de trombocitopenia y/o leucopenia administrando la composición de la presente divulgación. La composición de la presente divulgación se puede administrar sola o con otros medicamentos de forma secuencial o simultánea. Cuando la composición de la presente divulgación se administra con el fármaco G-CSF, el término "tratamiento" o "tratar" incluye profilaxis, mitigación, mejoría, retraso o reducción de los síntomas, así como la eliminación parcial o completa o la prevención de los síntomas, de neutropenia y/o efectos secundarios de G-CSF, administrando el monoacetildiacilglicerol en combinación (secuencial o simultáneamente) con el fármaco G-CSF.
- La cantidad preferida de la composición de la presente divulgación se puede variar de acuerdo con la afección y el peso del paciente, gravedad de la enfermedad, el tipo de formulación del fármaco, la vía de administración y el período de tratamiento. Un médico puede determinar una cantidad total apropiada de administración por 1 día, y generalmente es de aproximadamente 0,05 a 200 mg/kg. Extrapolando a partir de experimentos *in vivo* en animales y experimentos *in vitro* en células, se determina que la cantidad de administración total preferida por día es de 0,1 a 100 mg/kg para un ser humano adulto. Por ejemplo, la cantidad total de 50 mg/kg se puede administrar una vez al día o se puede administrar en dosis divididas dos veces, tres o cuatro veces al día.
- Por ejemplo, en una realización, la divulgación proporciona una nueva composición farmacéutica en forma de dosis unitarias, en forma de una cápsula de gelatina blanda para administración oral que contiene 250-1000 mg, por ejemplo, 500 mg, de sustancia farmacológica PLAG, libre de otros triglicéridos, junto con 0,1 - 3 mg, p.ej., 1 mg de un compuesto de tocoferol farmacéuticamente aceptable, por ejemplo,  $\alpha$ -tocoferol, como antioxidante, por ejemplo, para administración una o dos veces al día, a una dosis diaria de 500 mg a 4.000 mg, por ejemplo 1000 mg/día administrados como una dosis dividida de 500 mg por la mañana y 500 mg por la noche.
- La composición de la presente divulgación se puede administrar a cualquier sujeto que requiera la prevención o el tratamiento de trombocitopenia y leucopenia. Por ejemplo, la composición de la presente descripción puede administrarse no solo a seres humanos sino también a animales no humanos (específicamente mamíferos) tales como a un mono, perro, gato, conejo, cobaya, rata, ratón, vaca, oveja, cerdo, cabra, etc. La composición de la presente divulgación puede administrarse por diversos métodos convencionales, por ejemplo, por administración oral o del recto, o por inyección intravenosa (i.v.), intramuscular (i.m.), subcutánea (s.c.) o cerebrovascular. Como los monoacetildiacilgliceroles son activos por vía oral, generalmente se administran por vía oral, por ejemplo, en forma de una cápsula de gelatina, o en forma de un alimento funcional saludable, es decir, un alimento que contiene una cantidad eficaz de monoacetildiacilglicerol de fórmula 1.
- La divulgación proporciona, por lo tanto, en un aspecto, un método (Método 1) para tratar, (p.ej., inhibir, reducir, controlar, mitigar o revertir) una afección seleccionada de leucopenia (por ejemplo, neutropenia) y/o trombocitopenia, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz (por ejemplo, una cantidad protectora de neutrófilos o plaquetas) de un compuesto de fórmula 1:

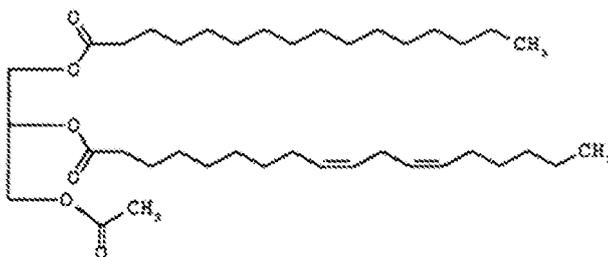


en la que  $R_1$  y  $R_2$  son independientemente un grupo de ácido graso de 14 a 22 átomos de carbono, por ejemplo, PLAG; por ejemplo,

5 **1.1.** El Método 1 en donde  $R_1$  y  $R_2$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en palmitoílo, oleoílo, linoleoílo, linoleñoílo, estearoílo, miristoílo y araquidonoílo.

10 **1.2.** El Método 1 o 1.1 en donde  $R_1$  y  $R_2$  ( $R_1/R_2$ ) se seleccionan del grupo que consiste en oleoílo/palmitoílo, palmitoílo/oleoílo, palmitoílo/linoleoílo, palmitoílo/linoleñoílo, palmitoílo/araquidonoílo, palmitoílo/estearoílo, palmitoílo/palmitoílo, oleoílo/estearoílo, linoleoílo/palmitoílo, linoleoílo/estearoílo, estearoílo/ linoleoílo, estearoílo/oleoílo, miristoílo/linoleoílo, miristoílo/oleoílo.

15 **1.3.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 (PLAG):



20 **1.4.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 2 a en una composición farmacéutica que está sustancialmente libre de otros monoacetildiacylgliceroles, por ejemplo, en donde al menos el 95 %, por ejemplo al menos el 99 % del total de monoacetildiacylgliceroles en la formulación son de Fórmula 2.

**1.5.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 2 se administra en una composición farmacéutica que está sustancialmente libre de otros compuestos de monoacetildiacylglicerol.

25 **1.6.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 2 se administra en una composición farmacéutica que está sustancialmente libre de otros compuestos de triglicéridos.

**1.7.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se separa y extrae de cornamenta de ciervo natural.

30 **1.8.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se produce por síntesis química.

**1.9.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica para administración oral.

35 **1.10.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que es una cápsula de gelatina blanda que contiene el Compuesto de Fórmula 1 en combinación o asociación a un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, en donde el diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable comprende un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.

40 **1.11.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que comprende del 0,0001 al 100,0 % en peso, por ejemplo 50-95 % o 95-99 %, en peso de la composición.

45 **1.12.** Cualquier método anterior en donde la composición comprende además un antioxidante farmacéuticamente aceptable, por ejemplo ácido ascórbico (AA, E300) y tocoferoles (E306), así como antioxidantes sintéticos tales como galato de propilo (PG, E310), butilhidroquinona terciaria (TBHQ), hidroxianisol butilado (BHA, E320) e hidroxitolueno butilado (BHT, E321), por ejemplo a-tocoferol.

- 5 **1.13.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 administrado en la forma de una cápsula de gelatina blanda que contiene 250 mg del Compuesto de Fórmula 2 en combinación o asociación a aproximadamente 50 mg de un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.
- 1.14.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de un alimento funcional, por ejemplo, como un aditivo o mezcla de alimentos adecuados para el consumo humano.
- 10 **1.15.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra una vez al día (q.d.) o dos veces al día (b.i.d.).
- 1.16.** Cualquier método anterior en donde la dosificación diaria total del Compuesto de Fórmula 1 es de 250 mg a 2000 mg/día, por ejemplo 500 mg-1500 mg/día, por ejemplo, 500 mg/día, 1000 mg/día o 1500 mg/día.
- 15 **1.17.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg dos veces al día, por ejemplo, por la mañana y por la noche.
- 1.18.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg una vez al día, por ejemplo, por la noche.
- 20 **1.19.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra durante un período de al menos dos semanas, por ejemplo, al menos un mes.
- 1.20.** Cualquier método anterior en donde la composición farmacéutica puede formularse en forma sólida, líquida, en gel o en suspensión para administración oral o no oral.
- 25 **1.21.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 (PLAG), administrado en la forma de cápsula de gelatina blanda para administración oral que contiene 500 mg de sustancia farmacológica PLAG y 1 mg de  $\alpha$ -tocoferol como antioxidante, administrado una o dos veces al día, en una dosis diaria total de 500 mg a 4.000 mg.
- 30 **1.22.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar es neutropenia.
- 1.23.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar está provocada por una de las enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en neumonía, infección del oído, infección de las encías orales, envenenamiento por arsénico, hemodiálisis, compuesto químico, proteína, agente anticancerígeno, quimioterapia y radioterapia.
- 35 **1.24.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar está provocada por una de las enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en neumonía, infección del oído, infección de las encías orales, envenenamiento por arsénico, hemodiálisis, compuesto químico, proteína, agente anticancerígeno, quimioterapia y radioterapia.
- 40 **1.25.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar está provocada o agravada por un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ziv-aflibercept, brentuximab vedotina, pralatrexato, ganciclovir, valganciclovir, romidepsina, ruxolitinib, decitabina, imatinib, topotecán, lenalidomida, irinotecán, interferones, fenilhidrazina, tamoxifeno, lipopolisacárido, antibióticos de antraciclina, gemcitabina, citoxano, paclitaxel, agente antineoplásico alquilante, agente intercalante de ADN, inhibidor de topoisomerasa y derivados o mezclas de los mismos.
- 45 **1.26.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar incluye trombocitopenia inducida por un fármaco, por ejemplo, un fármaco seleccionado de Ziv-aflibercept, Brentuximab vedotina, Pralatrexato, Ganciclovir, Valganciclovir, Romidepsina, Ruxolitinib, Decitabina, Imatinib, Topotecán, Lenalidomida, Irinotecán, Interferones, Fenilhidrazina, Tamoxifeno, Lipopolisacárido, Antibióticos de antraciclina (p. ej., daunorrubicina, doxorrubicina (= Adriamicina)), Gemcitabina, Citoxano, Paclitaxel, Agente antineoplásico alquilante, agente intercalante de ADN, (p. ej., agente alquilante, bendamustina, mostaza), inhibidor de topoisomerasas, Bortezomib, Temsirolimus, Vorinostat, Ifosfamida, Ixabepilona y sus derivados.
- 50 **1.27.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar incluye leucopenia, por ejemplo, neutropenia, inducida por un fármaco, por ejemplo, un fármaco seleccionado de Ziv-aflibercept, Brentuximab Vedotina, Deferiprona, Gemcitabina, Pralatrexato, Ganciclovir, Valganciclovir, Talidomida, Romidepsina, Boceprevir, Decitabina, Imatinib, Topotecán, Lenalidomida, Paclitaxel, Olanzapina, Irinotecán, Paliperidona, Interferones, Lipopolisacárido, tamoxifeno, Flecainida (un fármaco antiarrítmico cardíaco de clase 1C), Fenitoína, Indometacina, Propiltiouracilo, Carbimazol, Clorpromazina, Trimetoprima/sulfametoxazol (cotrimoxazol), Clozapina, Ticlopidina y sus derivados, Ciclofosfamida, Mecloretamina, Clorambucilo, Melfalán, Carmustina (BCNU), Lomustina (CCNU), Procarbazina,
- 55 **1.27.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar incluye leucopenia, por ejemplo, neutropenia, inducida por un fármaco, por ejemplo, un fármaco seleccionado de Ziv-aflibercept, Brentuximab Vedotina, Deferiprona, Gemcitabina, Pralatrexato, Ganciclovir, Valganciclovir, Talidomida, Romidepsina, Boceprevir, Decitabina, Imatinib, Topotecán, Lenalidomida, Paclitaxel, Olanzapina, Irinotecán, Paliperidona, Interferones, Lipopolisacárido, tamoxifeno, Flecainida (un fármaco antiarrítmico cardíaco de clase 1C), Fenitoína, Indometacina, Propiltiouracilo, Carbimazol, Clorpromazina, Trimetoprima/sulfametoxazol (cotrimoxazol), Clozapina, Ticlopidina y sus derivados, Ciclofosfamida, Mecloretamina, Clorambucilo, Melfalán, Carmustina (BCNU), Lomustina (CCNU), Procarbazina,
- 60 **1.27.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar incluye leucopenia, por ejemplo, neutropenia, inducida por un fármaco, por ejemplo, un fármaco seleccionado de Ziv-aflibercept, Brentuximab Vedotina, Deferiprona, Gemcitabina, Pralatrexato, Ganciclovir, Valganciclovir, Talidomida, Romidepsina, Boceprevir, Decitabina, Imatinib, Topotecán, Lenalidomida, Paclitaxel, Olanzapina, Irinotecán, Paliperidona, Interferones, Lipopolisacárido, tamoxifeno, Flecainida (un fármaco antiarrítmico cardíaco de clase 1C), Fenitoína, Indometacina, Propiltiouracilo, Carbimazol, Clorpromazina, Trimetoprima/sulfametoxazol (cotrimoxazol), Clozapina, Ticlopidina y sus derivados, Ciclofosfamida, Mecloretamina, Clorambucilo, Melfalán, Carmustina (BCNU), Lomustina (CCNU), Procarbazina,
- 65 **1.27.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar incluye leucopenia, por ejemplo, neutropenia, inducida por un fármaco, por ejemplo, un fármaco seleccionado de Ziv-aflibercept, Brentuximab Vedotina, Deferiprona, Gemcitabina, Pralatrexato, Ganciclovir, Valganciclovir, Talidomida, Romidepsina, Boceprevir, Decitabina, Imatinib, Topotecán, Lenalidomida, Paclitaxel, Olanzapina, Irinotecán, Paliperidona, Interferones, Lipopolisacárido, tamoxifeno, Flecainida (un fármaco antiarrítmico cardíaco de clase 1C), Fenitoína, Indometacina, Propiltiouracilo, Carbimazol, Clorpromazina, Trimetoprima/sulfametoxazol (cotrimoxazol), Clozapina, Ticlopidina y sus derivados, Ciclofosfamida, Mecloretamina, Clorambucilo, Melfalán, Carmustina (BCNU), Lomustina (CCNU), Procarbazina,

Dacarbazina (DTIC), Altretamina, Cisplatino, Carboplatino, Actinomicina D, Etopósido, Topotecán, Irinotecán, Doxorubicina y daunorubicina, 6-Mercaptopurina, 6-Tioguanina, Idarrubicina, Epirarubicina, Mitoxantrona, Azatioprina, 2-Cloro desoxiadenosina, Hidroxiurea, Methotrexato, 5-fluorouracilo, Arabinósido de citosina, Azacitidina, Gemcitabina, Fosfato de fludarabina, Vincristina, Vinblastina, Vinorelbina, Paclitaxel, Docetaxel, Tamoxifeno, Pemetrexed, Nab-paclitaxel, Dasatinib, Paralatrexato, Decitabina, Romidepsina, Imatinib, Lenalidomida, Sunitinib, Oxaliplatino y Talidomida.

**1.28.** Cualquier método anterior en donde el paciente recibe o tiene la intención de recibir quimioterapia en una dosis suficiente para provocar neutropenia o trombocitopenia en ausencia de tratamiento con un compuesto de fórmula 1, o padece neutropenia o trombocitopenia como consecuencia de quimioterapia.

**1.29.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer que recibe quimioterapia mielosupresora.

**1.30.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer que recibe quimioterapia mielosupresora, en donde el tratamiento con el compuesto de Fórmula 1 se suspende durante un período de al menos 24 horas antes hasta al menos 24 horas después de la administración de la quimioterapia, por ejemplo, para reducir la vulnerabilidad de las células estimuladas por el compuesto de Fórmula 1 a la quimioterapia.

**1.31.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer que recibe trasplante de médula ósea.

**1.32.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer, el compuesto de fórmula 1 se administra antes de la quimioterapia mieloablative, para potenciar los niveles de células progenitoras de sangre periférica, que se recogen para la reintroducción en el paciente después de la quimioterapia mieloablative, y opcionalmente, el compuesto de fórmula 1 también se administra a continuación de la quimioterapia mieloablative.

**1.33.** Cualquier método anterior en donde el paciente padece neutropenia crónica, por ejemplo, neutropenia congénita, neutropenia cíclica o neutropenia idiopática.

**1.34.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar incluye neutropenia, por ejemplo, en donde "neutropenia" se considera un recuento de 2000 o menos, por ejemplo, 1.700 o menos, por ejemplo, 1.500 o menos neutrófilos por microlitro de sangre.

**1.35.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el tratamiento continúa hasta que el paciente tenga al menos 5000, por ejemplo, al menos 8000, por ejemplo, al menos 10.000 neutrófilos por microlitro de sangre.

**1.36.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde la neutropenia se asocia a fiebre.

**1.37.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en una cantidad eficaz para mitigar o tratar los efectos secundarios de G-CSF, por ejemplo, trombocitopenia y/o dolor óseo inducido por G-CSF.

**1.38.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente padece o está en riesgo de neutropenia o trombocitopenia debido al tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos seleccionados de ciclofosfamida, doxorubicina, etopósido, ifosfamida, mesna, cisplatino, gemcitabina y tamoxifeno.

**1.39.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente padece o está en riesgo de neutropenia o trombocitopenia debido a radioterapia.

**1.40.** El método de cualquier reivindicación precedente en donde la afección a tratar está provocada en su totalidad o en parte por quimioterapia.

**1.41.** El método de cualquier reivindicación precedente en donde la afección a tratar está provocada en su totalidad o en parte por radioterapia.

**1.42.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar incluye trombocitopenia, p.ej. en donde la trombocitopenia se considera menos de 130.000, por ejemplo, menos de 100.000, por ejemplo, menos de 50.000 plaquetas por microlitro ( $\mu$ l) de sangre.

**1.43.** Cualquier método anterior en donde el paciente padece trombocitopenia crónica, por ejemplo, debido al cáncer, infección vírica, anemia aplásica, púrpura trombocítica inmunitaria (PTI), púrpura trombocitopénica trombótica (TTP) o enfermedad hepática.

5 **1.44.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar es trombocitopenia provocada o coincidente con una afección seleccionada del grupo que consiste en petequias, sangrado estomacal, hematuria (sangrado en la orina), flujo menstrual excesivo, apoplejía, ceguera, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), hiperactividades de bazo, cirrosis, hepatitis (especialmente hepatitis C), enfermedad crónica del hígado, leucemia, linfoma, lupus, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), un compuesto químico, un agente anticanceroso, una proteína y radioterapia.

10 **1.45.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el tratamiento continúa hasta que el paciente tenga al menos 50.000, por ejemplo, al menos 100.000, por ejemplo, al menos 130.000 plaquetas por microlitro de sangre.

15 **1.46.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde la afección tratada es neutropenia y el paciente recibe un agente quimioterapéutico para el tratamiento de un cáncer que se puede producir o estimular por G-CSF, por ejemplo, en donde el agente quimioterapéutico se selecciona de uno o más de ciclofosfamida, doxorubicina, etopósido, ifosfamida, mesna, cisplatino, gemcitabina, tamoxifeno y lenalidomida; por ejemplo, en donde el agente quimioterapéutico es lenalidomida; por ejemplo, en donde el cáncer es mieloma múltiple, leucemia mielógena crónica (CML), leucemia mieloide crónica o síndrome mielodisplásico.

20 **1.47.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de fórmula 1 se administra antes de la quimioterapia mieloablativa para potenciar los niveles de células progenitoras de sangre periférica que se recogen para la reintroducción en el paciente después de la quimioterapia mieloablativa, y opcionalmente, el compuesto de fórmula 1 también se administra a continuación de la quimioterapia mieloablativa.

25 **1.48.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de fórmula 1 induce la diferenciación de células madre hematopoyéticas (HSC) para formar precursores mieloides comunes (CMP), neutrófilos, eosinófilos y monocitos, y suprime la diferenciación de células madre hematopoyéticas (HSC) para formar precursores linfoides comunes (CLP), formación de precursores linfocitarios comunes y linfocitos.

30 **1.49.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar es tanto neutropenia como trombocitopenia.

**1.50.** Cualquier método anterior en donde el tratamiento es profiláctico.

**1.51.** Cualquier método anterior en donde el paciente es un ser humano.

35 **1.52.** Cualquier método anterior en donde se ha diagnosticado al paciente previamente con cáncer.

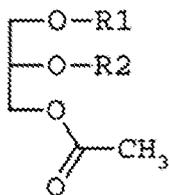
40 La divulgación proporciona adicionalmente un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, (o una composición farmacéutica, por ejemplo, como se describe en el presente documento, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG) para su uso en el tratamiento, (p.ej., inhibir, reducir, controlar, mitigar o revertir) una afección seleccionada de leucopenia (por ejemplo, neutropenia) y/o trombocitopenia, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los Métodos 1, y siguientes.

45 La divulgación proporciona adicionalmente uso de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, en la fabricación de un fármaco para el tratamiento, (p.ej., inhibir, reducir, controlar, mitigar o revertir) una afección seleccionada de leucopenia (por ejemplo, neutropenia) y/o trombocitopenia, por ejemplo, en cualquiera de los Métodos 1, y siguientes.

50 En una realización particular, la divulgación proporciona un método para tratar cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite un agente quimioterapéutico, junto con un compuesto de fórmula 1 administrado de acuerdo con cualquiera de los Métodos 1, y siguientes, en donde el agente quimioterapéutico se administra a una dosis y/o durante un período de tiempo que provocaría neutropenia y/o trombocitopenia en el paciente si el paciente no recibiera el compuesto de fórmula 1.

55 La divulgación proporciona adicionalmente un método para mejorar la calidad de vida de un paciente que recibe quimioterapia y/o radioterapia, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula 1, especialmente PLAG, por ejemplo para reducir la fatiga o mucositis inducida por quimioterapia, por ejemplo, administrando el compuesto de fórmula 1 de acuerdo con cualquiera de los Métodos 1, y siguientes.

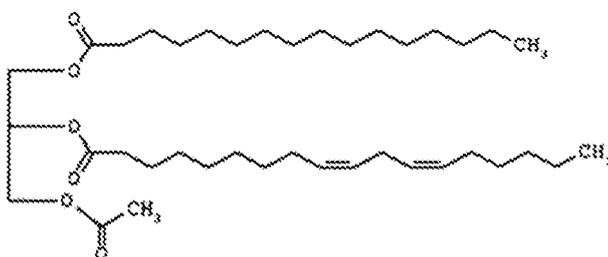
60 La divulgación proporciona, en otro aspecto, un método (Método 2) para tratar, controlar o mitigar la neutropenia y/o la trombocitopenia en un paciente que recibe un agente quimioterapéutico, por ejemplo lenalidomida, para tratar un cáncer que es estimulado o agravado por G-CSF (p.ej., una malignidad de la médula ósea, por ejemplo mieloma múltiple, leucemia mieloide aguda, leucemia mielógena crónica o síndrome mielodisplásico), comprendiendo el método la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula 1:



en la que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son independientemente un grupo de ácido graso de 14 a 22 átomos de carbono, por ejemplo, PLAG, a un paciente que lo necesite; por ejemplo, de acuerdo con cualquiera de los Métodos 1, y siguientes, por ejemplo,

**2.1.** El Método 2 en donde R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en palmitoílo, oleoílo, linoleoílo, linolenóilo, estearoílo, miristoílo y araquidonóilo.

**2.2.** El Método 2 o 2.1 en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2:



**2.3.** El Método 2.2 en donde el compuesto de Fórmula 2 se administra en una composición farmacéutica que está sustancialmente libre de otros monoacetildiacilgliceroles, por ejemplo, en donde al menos el 95 %, por ejemplo al menos el 99 % del total de monoacetildiacilgliceroles en la formulación son de Fórmula 2.

**2.4.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se separa o extrae de cornamenta de ciervo natural.

**2.5.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se produce por síntesis química.

**2.6.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica para administración oral.

**2.7.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que es una cápsula de gelatina blanda que contiene el Compuesto de Fórmula 1 en combinación o asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, en donde el diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable comprende un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.

**2.8.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que comprende del 0,0001 al 100,0 % en peso, por ejemplo 50 -95 %, en peso de la composición.

**2.9.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 administrado en la forma de una cápsula de gelatina blanda que contiene 250 mg del Compuesto de Fórmula 2 en combinación o asociación a aproximadamente 50 mg de un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.

**2.10.** Cualquiera del Método 2 - 2.5 en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de un alimento funcional, por ejemplo, como un aditivo o mezcla de alimentos adecuados para el consumo humano.

**2.11.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra una vez al día (q.d.) o dos veces al día (b.i.d.).

**2.12.** Cualquier método anterior en donde la dosificación diaria total del Compuesto de Fórmula 1 es de 250 mg a 2000 mg/día, por ejemplo 500 mg-1500 mg/día, por ejemplo, 500 mg/día, 1000 mg/día o 1500 mg/día.

**2.13.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg dos veces al día, por ejemplo, por la mañana y por la noche.

**2.14.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg una vez al día, por ejemplo, por la noche.

**2.15.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra con alimentos, por ejemplo, después de la cena.

**2.16.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra durante un período de al menos dos semanas, por ejemplo, al menos un mes.

**2.17.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 (PLAG), administrado en la forma de cápsula de gelatina blanda para administración oral que contiene 500 mg de sustancia farmacológica PLAG y 1 mg de  $\alpha$ -tocoferol como antioxidante, administrado una o dos veces al día, en una dosis diaria total de 500 mg a 4.000 mg.

**2.18.** Cualquier método anterior en donde el agente quimioterapéutico se selecciona de uno o más de ciclofosfamida, doxorubicina, etopósido, ifosfamida, mesna, cisplatino, gemcitabina, tamoxifeno y lenalidomida.

**2.19.** Cualquier método anterior en donde el agente quimioterapéutico es lenalidomida.

**2.20.** Cualquier método anterior en donde el cáncer es mieloma múltiple.

**2.21.** Cualquier método anterior en donde el cáncer es leucemia mielógena crónica (CML).

**2.22.** Cualquier método anterior en donde el cáncer es leucemia mieloide aguda.

**2.23.** Cualquier método anterior en donde el cáncer es síndrome mielodisplásico.

**2.24.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente tiene

01.24.1 la intención de recibir quimioterapia a una dosis suficiente para provocar neutropenia en ausencia de otro tratamiento, o

01.24.2 que padece neutropenia como consecuencia de la quimioterapia.

**2.25.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer, el compuesto de fórmula 1 se administra antes de la quimioterapia mieloablativa, para potenciar los niveles de células progenitoras de sangre periférica, que se recogen para la reintroducción en el paciente después de la quimioterapia mieloablativa, y opcionalmente, el compuesto de fórmula también se administra a continuación de la quimioterapia mieloablativa.

**2.26.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde se considera que la "neutropenia" es un recuento de 2000 o menos, por ejemplo, 1.700 o menos, por ejemplo, 1.500 o menos neutrófilos por microlitro de sangre.

**2.27.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el tratamiento continúa hasta que el paciente tenga al menos 5000, por ejemplo, al menos 8000, por ejemplo, al menos 10.000 neutrófilos por microlitro de sangre.

**2.28.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde la neutropenia se asocia a fiebre.

**2.29.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente padece o está en riesgo de neutropenia o trombocitopenia debido al tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos seleccionados de ciclofosfamida, doxorubicina, etopósido, ifosfamida, mesna, cisplatino, gemcitabina y tamoxifeno.

**2.30.** Cualquier método anterior en donde la afección a tratar incluye trombocitopenia, p.ej. en donde la trombocitopenia se considera menos de 130.000, por ejemplo, menos de 100.000, por ejemplo, menos de 50.000 plaquetas por microlitro ( $\mu$ l) de sangre.

**2.31.** Cualquier método anterior en donde el paciente padece trombocitopenia crónica, por ejemplo, debido al cáncer, infección vírica, anemia aplásica, púrpura trombocítica inmunitaria (PTI), púrpura trombocitopénica trombótica (TTP) o enfermedad hepática.

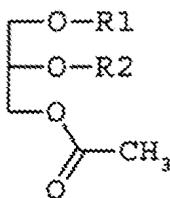
**2.32.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el tratamiento continúa hasta que el paciente tenga al menos 50.000, por ejemplo, al menos 100.000, por ejemplo, al menos 130.000 plaquetas por microlitro de sangre.

**2.33.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de fórmula 1 se administra de acuerdo con cualquiera de los Métodos 1, y siguientes.

La divulgación proporciona adicionalmente un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, (o una composición farmacéutica, por ejemplo, como se describe en el presente documento, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG) para su uso en combinación con un agente quimioterapéutico, por ejemplo, lenalidomida p.ej., para su uso en cualquiera de los Métodos 2, y siguientes.

La divulgación proporciona adicionalmente uso de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, en la fabricación de un medicamento para su uso en combinación con un agente quimioterapéutico, por ejemplo, lenalidomida p.ej., para su uso en cualquiera de los Métodos 2, y siguientes.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método (Método 3) para tratar un cáncer hematológico, por ejemplo, una malignidad de la médula ósea, por ejemplo, un cáncer hematológico que se puede producir o agravar por G-CSF, por ejemplo, seleccionado de mieloma múltiple, leucemia mieloide aguda, leucemia mielógena crónica o síndrome mielodisplásico, que comprende administrar conjuntamente (secuencial o simultáneamente) una cantidad eficaz de (i) un agente quimioterapéutico, por ejemplo, lenalidomida y (ii) un compuesto de Fórmula 1:

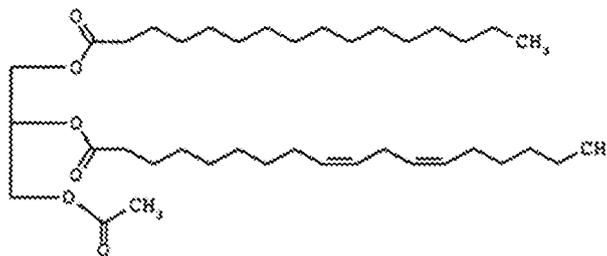


en la que R1 y R2 son independientemente un grupo de ácido graso de 14 a 22 átomos de carbono, por ejemplo, PLAG, a un paciente que lo necesite; por ejemplo,

**3.1.** El Método 3 en donde R1 y R2 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en palmitoilo,

oleoílo, linoleoílo, linoleñoílo, estearoílo, miristoílo y araquidonoílo.

**3.2.** El Método 3 o 3.1 en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2:



5

**3.3.** El Método 3.2 en donde el Compuesto de Fórmula 2 se administra en una composición farmacéutica que está sustancialmente libre de otros monoacetilglicéridos, por ejemplo, en donde al menos el 95 %, por ejemplo al menos el 99 % del total de monoacetilglicéridos en la formulación son de Fórmula 2.

10

**3.4.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se separa o extrae de cornamenta de ciervo natural.

**3.5.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se produce por síntesis química.

**3.6.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica para administración oral.

15

**3.7.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que es una cápsula de gelatina blanda que contiene el Compuesto de Fórmula 1 en combinación o asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, en donde el diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable comprende un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.

20

**3.8.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que comprende del 0,0001 al 100,0 % en peso, por ejemplo 50 -95 %, en peso de la composición.

**3.9.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 administrado en la forma de una cápsula de gelatina blanda que contiene 250 mg del Compuesto de Fórmula 2 en combinación o asociación a aproximadamente 50 mg de un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.

25

**3.10.** Cualquiera del Método 3 - 3.5 en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de un alimento funcional, por ejemplo, como un aditivo o mezcla de alimentos adecuados para el consumo humano.

**3.11.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra una vez al día (q.d.) o dos veces al día (b.i.d.).

30

**3.12.** Cualquier método anterior en donde la dosificación diaria total del Compuesto de Fórmula 1 es de 250 mg a 2000 mg/día, por ejemplo 500 mg-1500 mg/día, por ejemplo, 500 mg/día, 1000 mg/día o 1500 mg/día.

**3.13.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg dos veces al día, por ejemplo, por la mañana y por la noche.

**3.14.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg una vez al día, por ejemplo, por la noche.

35

**3.15.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 (PLAG), administrado en la forma de cápsula de gelatina blanda para administración oral que contiene 500 mg de sustancia farmacológica PLAG y 1 mg de  $\alpha$ -tocoferol como antioxidante, administrado una o dos veces al día, en una dosis diaria total de 500 mg a 4.000 mg.

40

**3.16.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra con alimentos, por ejemplo, después de la cena.

**3.17.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra durante un período de al menos dos semanas, por ejemplo, al menos un mes.

**3.18.** Cualquier método anterior en donde el agente quimioterapéutico se selecciona de uno o más de ciclofosfamida, doxorubicina, etopósido, ifosfamida, mesna, cisplatino, gemcitabina, tamoxifeno y lenalidomida.

45

**3.19.** Cualquier método anterior en donde el agente quimioterapéutico es lenalidomida.

**3.20.** Cualquier método anterior en donde el cáncer es mieloma múltiple.

**3.21.** Cualquier método anterior en donde el cáncer es leucemia mielógena crónica (CML).

**3.22.** Cualquier método anterior en donde el cáncer es leucemia mieloide aguda.

**3.23.** Cualquier método anterior en donde el cáncer es síndrome mielodisplásico.

50

**3.24.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente tiene

.24.1 la intención de recibir quimioterapia a una dosis suficiente para provocar neutropenia en ausencia de otro tratamiento, o

.24.2 que padece neutropenia como consecuencia de la quimioterapia.

55

**3.25.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer, el compuesto de fórmula 1 se administra antes de la quimioterapia mieloablativa, para potenciar los niveles de células progenitoras de sangre periférica, que se recogen para la reintroducción en el paciente después de la quimioterapia

mieloablativa, y opcionalmente, el compuesto de fórmula también se administra posteriormente a la quimioterapia mieloablativa.

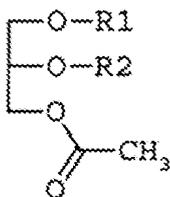
**3.26.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el tratamiento continúa hasta que el paciente tenga al menos 5000, por ejemplo, al menos 8000, por ejemplo, al menos 10.000 neutrófilos por microlitro de sangre.

**3.27.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de fórmula 1 se administra de acuerdo con cualquiera de los Métodos 1, y siguientes.

La divulgación proporciona adicionalmente un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, (o una composición farmacéutica, por ejemplo, como se describe en el presente documento, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG) para su uso en el tratamiento de cáncer hematológico, por ejemplo, una malignidad de la médula ósea, por ejemplo, un cáncer hematológico que se puede producir o agravar por G-CSF, por ejemplo, seleccionado de mieloma múltiple, leucemia mieloide aguda, leucemia mielógena crónica o síndrome mielodisplásico, en conjunto con la administración conjunta (secuencial o simultáneamente) de una cantidad eficaz de un agente quimioterapéutico, por ejemplo, lenalidomida, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los Métodos 3, y siguientes.

La divulgación proporciona adicionalmente uso de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, en la fabricación de un medicamento para tratar un cáncer hematológico, por ejemplo, una malignidad de la médula ósea, por ejemplo, un cáncer hematológico que se puede producir o agravar por G-CSF, por ejemplo, seleccionado de mieloma múltiple, leucemia mieloide aguda, leucemia mielógena crónica o síndrome mielodisplásico, en conjunto con la administración conjunta (secuencial o simultáneamente) de una cantidad eficaz de un agente quimioterapéutico, por ejemplo, lenalidomida, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los Métodos 3, y siguientes.

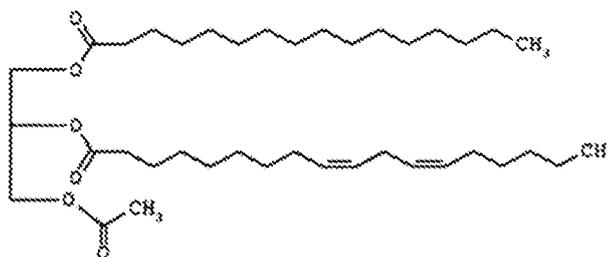
En otro aspecto, la divulgación proporciona un método (Método 4) para el tratamiento (que incluye profilaxis) de neutropenia y/o para movilizar células progenitoras de sangre periférica (PBPC), que comprende administrar (secuencial o simultáneamente) una cantidad eficaz de (i) un compuesto de Fórmula 1:



en la que  $R_1$  y  $R_2$  son independientemente un grupo de ácido graso de 14 a 22 átomos de carbono, por ejemplo, PLAG, y (ii) un G-CSF, por ejemplo, seleccionado de filgrastim, pegfilgrastim y lenograstim, a un paciente que lo necesite; por ejemplo,

**4.1.** El Método 4 en donde  $R_1$  y  $R_2$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en palmitoílo, oleoílo, linoleoílo, linolenoílo, estearoílo, miristoílo y araquidonoílo.

**4.2.** El Método 4 o 4.1 en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2:



**4.3.** El Método 4.2 en donde el Compuesto de Fórmula 2 se administra en una composición farmacéutica que está sustancialmente libre de otros monoacetildiacilgliceroles, por ejemplo, en donde al menos el 95 %, por ejemplo al menos el 99 % del total de monoacetildiacilgliceroles en la formulación son de Fórmula 2.

**4.4.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se separa o extrae de cornamenta de ciervo natural.

**4.5.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se produce por síntesis química.

**4.6.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica para administración oral.

**4.7.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que es una cápsula de gelatina blanda que contiene el Compuesto de Fórmula 1 en combinación o asociación a un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, en donde el diluyente o vehículo

farmacéuticamente aceptable comprende un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.

**4.8.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que comprende del 0,0001 al 100,0 % en peso, por ejemplo 50 -95 %, en peso de la composición.

**4.9.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 administrado en la forma de una cápsula de gelatina blanda que contiene 250 mg del Compuesto de Fórmula 2 en combinación o asociación con aproximadamente 50 mg de un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.

**4.10.** Cualquiera del Método 4 - 4.5 en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de un alimento funcional, por ejemplo, como un aditivo o mezcla de alimentos adecuados para el consumo humano.

**4.11.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra una vez al día (q.d.) o dos veces al día (b.i.d.).

**4.12.** Cualquier método anterior en donde la dosificación diaria total del Compuesto de Fórmula 1 es de 250 mg a 2000 mg/día, por ejemplo 500 mg-1500 mg/día, por ejemplo, 500 mg/día, 1000 mg/día o 1500 mg/día.

**4.13.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg dos veces al día, por ejemplo, por la mañana y por la noche.

**4.14.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg una vez al día, por ejemplo, por la noche.

**4.15.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 (PLAG), administrado en la forma de cápsula de gelatina blanda para administración oral que contiene 500 mg de sustancia farmacológica PLAG y 1 mg de a-tocoferol como antioxidante, administrado una o dos veces al día, en una dosis diaria total de 500 mg a 4.000 mg.

**4.16.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra con alimentos, por ejemplo, después de la cena.

**4.17.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra durante un período de al menos dos semanas, por ejemplo, al menos un mes.

**4.18.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el G-CSF se selecciona de filgrastim, pegfilgrastim y lenograstim, por ejemplo, en donde G-CSF es filgrastim.

**4.19.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente tiene

01.19.1 la intención de recibir quimioterapia a una dosis suficiente para provocar neutropenia en ausencia de otro tratamiento, o

01.19.2 que padece neutropenia como consecuencia de la quimioterapia.

**4.20.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer que recibe quimioterapia mielosupresora.

**4.21.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer que recibe quimioterapia mielosupresora, en donde el tratamiento con el compuesto de Fórmula 1 y el G-CSF se suspende durante un período de al menos 24 horas antes hasta al menos 24 horas después de la administración de la quimioterapia, por ejemplo, para reducir la vulnerabilidad de las células estimuladas por el compuesto de Fórmula 1 y el G-CSF a la quimioterapia.

**4.22.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer que recibe trasplante de médula ósea.

**4.23.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente es un paciente con cáncer, el compuesto de fórmula 1 y G-CSF se administran antes de la quimioterapia mieloablativa, para potenciar los niveles de células progenitoras de sangre periférica, que se recogen para la reintroducción en el paciente después de la quimioterapia mieloablativa, y opcionalmente, el compuesto de fórmula 1 y G-CSF también se administran a continuación de la quimioterapia mieloablativa.

**4.24.** Cualquier método anterior en donde el paciente padece neutropenia crónica, por ejemplo, neutropenia congénita, neutropenia cíclica o neutropenia idiopática.

**4.25.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde se considera que la "neutropenia" es un recuento de 2000 o menos, por ejemplo, 1.700 o menos, por ejemplo, 1.500 o menos neutrófilos por microlitro de sangre.

**4.26.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el tratamiento continúa hasta que el paciente tenga al menos 5000, por ejemplo, al menos 8000, por ejemplo, al menos 10.000 neutrófilos por microlitro de sangre.

**4.27.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde la neutropenia se asocia a fiebre.

**4.28.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en una cantidad eficaz para mitigar o tratar los efectos secundarios de G-CSF, por ejemplo, trombocitopenia y/o dolor óseo inducido por G-CSF.

**4.29.** Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente padece o está en riesgo de neutropenia debido al tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos seleccionados de ciclofosfamida, doxorubicina, etopósido, ifosfamida, mesna, cisplatino, gemcitabina y tamoxifeno.

**4.30.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de fórmula 1 se administra de acuerdo con cualquiera de los Métodos 1, y siguientes.

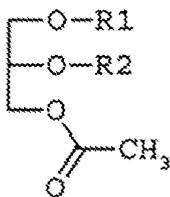
La divulgación además proporciona un método (Método 5) para mitigar o tratar los efectos secundarios de G-CSF, por ejemplo, trombocitopenia y/o dolor óseo inducido por G-CSF, que comprende la administración conjunta, secuencial

o simultáneamente, de un compuesto de fórmula 1, por ejemplo, PLAG, a un paciente que lo necesite, por ejemplo, en un régimen como se describe en cualquiera de los Métodos 1, y siguientes.

5 La divulgación proporciona adicionalmente un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, (o una composición farmacéutica, por ejemplo, como se describe en el presente documento, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG) para su uso en combinación con G-CSF, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los Métodos 1, y siguientes, Método 4, y siguientes o Método 5.

10 La divulgación proporciona adicionalmente uso de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, en la fabricación de un medicamento para su uso en combinación con G-CSF, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los Métodos 1, y siguientes o Métodos 4, y siguientes o Método 5.

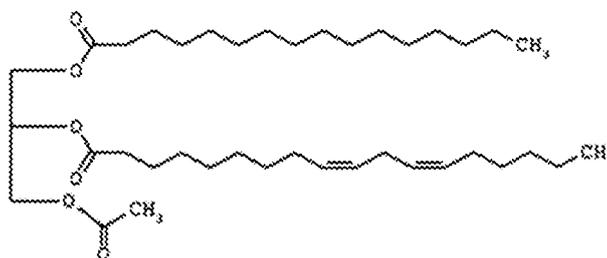
15 La divulgación proporciona adicionalmente un método (Método 6) para tratar la anemia que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula 1:



20 en la que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son independientemente un grupo de ácido graso de 14 a 22 átomos de carbono, por ejemplo, PLAG, a un paciente que lo necesite; por ejemplo,

20 **6.1.** El Método 6 en donde R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en palmitoílo, oleoílo, linoleoílo, linolenioílo, estearoílo, miristoílo y araquidonoílo.

**6.2.** El Método 6 o 6.1 en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2:



25 **6.3.** El Método 6.2 en donde el Compuesto de Fórmula 2 se administra en una composición farmacéutica que está sustancialmente libre de otros monoacetildiacilgliceroles, por ejemplo, en donde al menos el 95 %, por ejemplo al menos el 99 % del total de monoacetildiacilgliceroles en la formulación son de Fórmula 2.

30 **6.4.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se separa o extrae de cornamenta de ciervo natural.

**6.5.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se produce por síntesis química.

**6.6.** Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica para administración oral.

35 **6.7.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que es una cápsula de gelatina blanda que contiene el Compuesto de Fórmula 1 en combinación o asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, en donde el diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable comprende un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.

40 **6.8.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de una composición farmacéutica que comprende del 0,0001 al 100,0 % en peso, por ejemplo 50 -95 %, en peso de la composición.

**6.9.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 administrado en la forma de una cápsula de gelatina blanda que contiene 250 mg del Compuesto de Fórmula 2 en combinación o asociación con aproximadamente 50 mg de un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, un aceite comestible, por ejemplo, un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva.

45 **6.10.** Cualquiera del Método 6 - 6.5 en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en la forma de un alimento funcional, por ejemplo, como un aditivo o mezcla de alimentos adecuados para el consumo humano.

**6.11.** Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra una vez al día (q.d.) o dos veces al día (b.i.d.).

50 **6.12.** Cualquier método anterior en donde la dosificación diaria total del Compuesto de Fórmula 1 es de 250 mg a 2000 mg/día, por ejemplo 500 mg-1500 mg/día, por ejemplo, 500 mg/día, 1000 mg/día o 1500 mg/día.

6.13. Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg dos veces al día, por ejemplo, por la mañana y por la noche.

6.14. Cualquier método anterior en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra en una dosis de 500 mg una vez al día, por ejemplo, por la noche.

6.15. Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2 (PLAG), administrado en la forma de cápsula de gelatina blanda para administración oral que contiene 500 mg de sustancia farmacológica PLAG y 1 mg de  $\alpha$ -tocoferol como antioxidante, administrado una o dos veces al día, en una dosis diaria total de 500 mg a 4.000 mg.

6.16. Cualquier método anterior en donde el Compuesto de Fórmula 1 se administra con alimentos, por ejemplo, después de la cena.

6.17. Cualquiera de los métodos anteriores en donde el compuesto de Fórmula 1 se administra durante un período de al menos dos semanas, por ejemplo, al menos un mes.

6.18. Cualquiera de los métodos anteriores en donde el paciente también padece trombocitopenia.

6.19. Cualquier método anterior en donde el paciente recibe quimioterapia y/o radioterapia.

6.20. Cualquier método anterior en donde la anemia es anemia normocítica.

6.21. Cualquier método anterior en donde la anemia está provocada por sangrado activo, por ejemplo, por sangrado menstrual abundante, heridas, úlceras gastrointestinales o cáncer, por ejemplo cáncer de colon.

6.22. Cualquier método anterior en donde la anemia es de origen mielodisplásico.

6.23. Cualquier método anterior en donde el paciente tiene un nivel de hemoglobina de menos de 12 g/dl.

6.24. Cualquier método anterior en donde el tratamiento continúa hasta que el paciente tenga un nivel de hemoglobina de al menos 12 g/dl.

6.25. Cualquier método anterior donde el paciente también recibe hierro suplementario.

6.26. Cualquier método anterior en donde el compuesto de fórmula 1 se administra de acuerdo con cualquiera de los Métodos 1, y siguientes.

La divulgación proporciona adicionalmente un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, (o una composición farmacéutica, por ejemplo, como se describe en el presente documento, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG) para su uso en el tratamiento de la anemia, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los Métodos 6, y siguientes,

La divulgación proporciona adicionalmente uso de un compuesto de Fórmula 1, por ejemplo, PLAG, en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de la anemia, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los Métodos 6, y siguientes,

Como se usa a lo largo del presente documento, los intervalos se usan como abreviatura para describir todos y cada uno de los valores que están dentro del intervalo. Cualquier valor dentro del intervalo puede seleccionarse como el extremo del intervalo. En caso de conflicto en una definición en la presente divulgación y la de una referencia citada, la presente divulgación manda. A menos que se especifique otra cosa, todos los porcentajes y cantidades expresados en el presente documento y en otras partes de la memoria descriptiva deben entenderse como que se refieren a porcentajes en peso. Las cantidades dadas se basan en el peso activo del material.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para una mejor comprensión de la divulgación. Sin embargo, la presente invención no está limitada por los ejemplos.

#### **Ejemplo 1 - Inhibición *in vitro* de la actividad PKC $\theta$ /p38/ERK en células RBL-2H3**

Los estudios de farmacología *in vitro* en líneas celulares muestran que PLAG es capaz de inhibir la vía PKC $\theta$ /p38 MAPK/ ERK, que está implicada en la maduración de las células progenitoras linfoides a partir de HSC. La fosforilación de p38 MAPK y ERK1/2 en células RBL-2H3 tratadas con PLAG se determina mediante análisis de transferencia Western usando antifosfo-p38 y antifosfo-ERK 1/2 respectivamente. Para activar p38 y ERK1/2 en células RBL-2H3, las células se sensibilizan con 50 ng/ml de anti-DNP-IgE durante la noche. Tras lavar con PBS tres veces, se añaden 20 ng/ml de DNP-HSA. Cada lisado celular para la transferencia Western se prepara en las células RBL-2H3 tratadas con PLAG de una manera dependiente de la dosis y se incuban durante el mismo tiempo (15 min). La  $\beta$ -actina se usa como controles internos. La fosforilación de ERK1/2 y p38 comienza inmediatamente después de la estimulación del complejo IgE-antígeno y permanece suficientemente activada durante 5 minutos. Sin embargo, cuando la estimulación del complejo IgE-antígeno se ejerce en células RBL-2H3 incubadas previamente con PLAG, la fosforilación de ERK1/2 y p38 se regula negativamente. La transferencia western muestra el efecto inhibitorio de PLAG sobre la activación de MAP cinasas p38 y ERK1/2 (MEK1/2) en células RBL-2H3 estimuladas con complejo IgE-antígeno.

#### **Ejemplo 2 - Inhibición *In Vitro* de la Vía de Activación del Complemento**

La actividad de PLAG para regular la actividad del complemento se logra suprimiendo la producción de C3. La producción de C3 depende de la actividad de STAT6. Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que PLAG suprime la actividad de STAT6 y, por lo tanto, suprime la producción de C3, que se regula positivamente o activa por quimioterapia.

*Desfosforilación de STAT6 en Células Tratadas con PLAG:* La desfosforilación de STAT6 se examina utilizando STAT6 antifosforilado en lisados de células U937, A549 y Jurkat tratadas con una concentración de PLAG de 0,01 a 10 µg/ml. La fosforilación de STAT6 se produce por el tratamiento con 10 ng/ml de IL-4. La desfosforilación de STAT1 se examina en el lisado de células U937 tratadas con PLAG (0,01 a 10 µg/ml). La fosforilación de STAT1 se produce por 10 ng de tratamiento con IFN-γ. La desfosforilación de STAT1 y STAT6 se examina a los 15 minutos después de la estimulación con IFN-γ e IL-4, respectivamente, en las células pretratadas con PLAG. El análisis de transferencia Western muestra actividades de STAT6 y STAT1. La actividad transcripcional de STAT6 disminuye por la desfosforilación de STAT6. En la línea celular U937 derivada de linfoma, en las células Jurkat derivadas de linfocitos T y en la línea celular epitelial pulmonar A549, la fosforilación de STAT6 inducida por el tratamiento con IL-4 se inhibe con concentraciones crecientes de PLAG. No se observa ningún efecto de PLAG sobre la fosforilación de STAT1.

*Actividad de STAT6:* Al usar el inhibidor de STAT6 (S6I), se confirma que la reducción del Complemento 3 en las células HepG2 (línea celular de hepatocitos humanos) está regulada por STAT6. Cuando se tratan células HepG2 con PLAG, la actividad transcripcional de STAT6 disminuye gradualmente de acuerdo con la cantidad de PLAG según lo confirmado por un estudio de actividad de luciferasa. También se confirma que PLAG tiene eficacia selectiva sobre STAT6 por encima de STAT1. La Figura 1 presenta gráficos que muestran la actividad transcripcional de STAT1 y STAT6 en las células HepG2 tratadas con PLAG. NC se refiere a la célula de control no estimulada. Para el ensayo de STAT1, se trata HepG2 (línea celular de hepatocitos humanos) transfectada con genes con 10 ng de IFN-γ y se añade PLAG diluido en serie (0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, 1 µg/ml y 10 µg/ml como se muestra) para ver su efecto sobre la expresión génica en la célula estimulada. Para el ensayo de STAT6, se tratan células HepG2 transfectadas con genes con 10 ng de IL-4 y de nuevo se añade PLAG diluido en serie (0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, 1 µg/ml y 10 µg/ml como se muestra) para ver su efecto sobre la expresión génica en la célula estimulada. El ensayo se lleva a cabo después de 12 horas de incubación de las células tratadas. PLAG no tiene ningún efecto sobre la expresión de STAT1 en este ensayo, pero tiene un efecto significativo dependiente de la dosis sobre la expresión de STAT6.

*Inhibición In Vitro de la Expresión de C3 en Células HMC-1 Humanas:* Los informes publicados sobre el papel de un mecanismo dependiente del complemento en la neutropenia producida por fármacos y el papel de los neutrófilos en la inflamación vascular y la respuesta a la sepsis sugieren que la activación del complemento puede estar implicada en la trombocitopenia y la leucopenia inducidas por quimioterapia. Los presentes inventores han encontrado que PLAG puede regular negativamente C3 para atenuar la activación del complemento; las células de monocitos humanos tratadas con PLAG (HMC-1) y los hepatocitos tratados con PLAG (HepG2) muestran una expresión reducida de C3.

Una línea de células sanguíneas, HMC-1 (mastocitos humanos, American Type Culture Collection, ATCC, Rockville, MD) se incuba y se mantiene a 37 °C en condiciones húmedas de CO<sub>2</sub> al 5 %. El medio es IMDM (Life Technologies, Karlsruhe, Alemania) que contiene un 10 % de Suero Fetal de Ternera (FCS, Hyclone, Logan, UT), L-glutamato 2 mM, 100 µg/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomina (Life Technologies). Las células HMC-1 cultivadas (1 x 10<sup>6</sup> células/ml) se tratan previamente con una concentración de PLAG de 0,1 y 1 µg/ml, seguido de tratamiento con IL-4 (5 ng) y/o TNF-α (10 ng) para inducir actividades celulares.

El C3 expresado y su cambio de nivel de ARNm se observan usando RT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa). La RT-PCR se lleva a cabo del modo siguiente: el ARN total se separa mediante el protocolo convencional y el ADNc se sintetiza usando el kit de síntesis de ADNc AccuScript High Fidelity 1st Strand (Stratagene) según las instrucciones del fabricante. La reacción de RT-PCR en dos etapas se lleva a cabo utilizando cebador Oligo-dT y transcriptasa inversa, par de cebadores y Taq polimerasa (Takara, Shiga, Japón). El ADNc sintetizado (1 µl) se utiliza para una reacción de PCR de 20 µl con 0,5 U de ExTaq ADN polimerasa, 1 tampón y una mezcla de dNTP 1 mM (Takara) y el par de cebadores. La amplificación por PCR se lleva a cabo en las siguientes condiciones utilizando el sistema GeneAmp PCR 2700 (Applied Biosystems, Foster city, CA, EE.UU.); 5 minutos a 94 °C, seguido por 45 segundos a 94 °C, 45 segundos a 56 °C y 1 minuto a 72 °C con 25-40 ciclos y la reacción de extensión final se realiza durante 7 minutos a 72 °C. El cebador de PCR utilizado para la amplificación de ADNc se diseña con el programa Primer3 y se adquiere de Bioneer (Daejeon, COREA). El producto de PCR se separa usando gel de agarosa al 1,5 %, se tiñe con bromuro de etidio (EtBr) y se visualiza con transiluminador UV Gel Doc 2000 (Bio-Rad Laboratories, Hércules, CA, EE. UU.), y los datos experimentales se analizan utilizando el software Quantity One (Bio-Rad Laboratories). Las transferencias Western muestran que el tratamiento de las células HMC-1 con IL-4 y TNF-α da como resultado la expresión de C3, que se suprime por PLAG en función de la concentración, comparable a las células tratadas con IL-4 y TNF-α, seguido de tratamiento con S6I (transductor de señal y activador del inhibidor de la transcripción 6 (STAT6), AS 1517499, Axon Medchem, Países Bajos). Un inhibidor de STAT6 bloquea la transducción de la señal de STAT6 en la célula mediante IL-4, lo que a su vez suprime la expresión de C3. Estos datos sugieren que PLAG puede funcionar de manera similar al inhibidor de STAT6.

*Inhibición de C3 por PLAG en HMC-1:* En un experimento distinto, se tratan mastocitos humanos (HMC-1, 1 x 10<sup>5</sup> células/ml) con PLAG de diversas concentraciones (1, 10 y 100 µg/ml) durante 2 horas. Las células se activan durante 72 horas con FBS al 10 % (suero fetal bovino) que contiene IMDM. La disminución de C3 se confirma mediante análisis ELISA de la proteína expresada. Como se muestra en la Figura 2, la disminución de C3 es proporcional a la concentración de PLAG (PLAG se denomina EC en esa figura; las unidades son µg/ml).

*Excreción de C3 de la línea celular HepG2:* Una línea de células hepáticas, HepG2 (American Type Culture Collection,

ATCC, Rockville, MD), se incuban y mantienen a 37 °C, atmósfera húmeda con CO<sub>2</sub> al 5 % en medio DMEM. Cuando las células HepG2, que se sabe que producen complemento en cultivo, se tratan con PLAG, la actividad del complemento se reduce eficazmente, según lo confirmado por RT-PCR de ARNm. En la RT-PCR, se distribuyen 5 x 10<sup>5</sup> número de células HepG2/ml en placas de 12 pocillos y se induce C3 durante 12 horas con FCS al 10 %. Después se añade PLAG y se cultiva adicionalmente durante 2 horas. Las células se recolectan y el ARNm se aísla y la RT-PCR se lleva a cabo con un cebador específico de C3; se utiliza GAPDH como control interno. La RT-PCR muestra que PLAG inhibe algo la expresión de C3 a 1 microgramo/ml y completamente a 10 microgramos/ml, comparable a los resultados obtenidos con 10 y 100 microgramos/ml de S6I.

Las líneas celulares de HepG2 incubadas se tratan con PLAG (1 ~ 100 µg/ml), seguido de IL-4 y TNF-α, se hacen reaccionar durante 1 hora, se incuban durante 18 horas a 37 °C y se aísla el sobrenadante. La cuantificación de la cantidad de C3 en el medio de cultivo celular (sobrenadante) de las células HepG2 se realiza mediante ELISA usando un anticuerpo monoclonal disponible comercialmente (mAb, R&D Systems) y el protocolo del fabricante; los resultados se presentan en la Figura 3. C3 se expresa espontáneamente en condiciones de cultivo *in vitro* utilizando FCS al 10 % añadido a células HepG2 incubadas durante 12 h. Las células se tratan con diferentes dosis de PLAG de 1 a 100 µg/ml (Panel A, Panel B) o 10 y 100 µg/ml de S6I (Panel C), se hacen reaccionar con IL-4 y TNF-α durante 1 hora y después se incuban durante 18 horas a 37 °C. La viabilidad celular se confirma utilizando el ensayo WST-1 (Panel A). Este ensayo muestra la viabilidad celular medida por la formación de material fluorescente, formazán, a partir de sales de tetrazolio, (WST-1) por la desoxigenasa en las mitocondrias en la célula. La Figura 3A confirma que PLAG no afecta la propagación y muerte celular. La Figura 3B muestra que la expresión de C3 disminuye de forma dependiente de la dosis mediante la administración de PLAG y la Figura 3C muestra que se obtiene un resultado similar mediante la administración de S6I.

**Ejemplo 3 - Efecto *in vivo* de PLAG sobre neutropenia, trombocitopenia y activación de complemento *in vivo* en ratones (solo una parte de la invención en la medida en que el tratamiento abarca la protección de neutrófilos o el tratamiento de neutropenia)**

*Ensayo *in Vivo* de Unidades Formadoras de Colonias en Bazo (UFC):* Para determinar el efecto *in vivo* de PLAG en la recuperación de la hematopoyesis, se realiza un ensayo de UFC en ratones fuertemente irradiados. Un examen microscópico de los bazo de ratones tratados con PLAG a una dosis i.p. o p.o. de 50 mg/kg/día revela un marcado aumento en el número de nódulos esplénicos y el número de células progenitoras primitivas y megacariocitos en todos los animales tratados.

*Estudio de Eficacia *In Vivo* en Ratones:* El efecto de PLAG para el tratamiento de la neutropenia y la trombocitopenia producida por quimioterapia (CIN) se evalúa en un modelo animal. Los agentes anticancerígenos (Gemcitabina 50 mg/kg, Ciclofosfamida 100 mg/o Tamoxifeno 50 mg/kg) se dosifican diariamente durante 3 semanas; también se administra 50 mg/kg de PLAG diariamente durante 3 semanas. Después de tres semanas, los neutrófilos se cosechan y cuentan con el Analizador Automático de Hematología BC-5300. Como se muestra en la Figura 4, el recuento reducido de neutrófilos después de la quimioterapia se evita mediante el tratamiento con PLAG. Los ratones tratados solo con Tamoxifeno muestran una pérdida extrema de peso, deshidratación y pérdida de actividad para retroceder, en comparación con el grupo tratado conjuntamente con PLAG, que muestra una mejora más rápida de las actividades y la tasa de supervivencia. En el grupo de ratones tratados con PLAG y Gemcitabina, la puntuación de neutrófilos mejoró significativamente. Aunque la gemcitabina reduce el recuento de neutrófilos en animales que reciben la administración conjunta de PLAG inicialmente, el recuento de neutrófilos se recupera a la normalidad y se mantiene a niveles normales, y la administración continua de PLAG da como resultado una tasa de supervivencia mejorada en comparación con el grupo tratado con Gemcitabina sola. En el grupo de ratones tratados con PLAG y ciclofosfamida, el recuento de neutrófilos también mejora significativamente en comparación con el grupo de control.

Los datos sobre los recuentos de plaquetas se representan en la Figura 5, que muestra que PLAG proporciona un efecto protector similar para las plaquetas contra Gemcitabina 50 mg/kg, Ciclofosfamida 100 mg /, o Tamoxifeno 50 mg/kg.

Se cree que la neutropenia y la trombocitopenia de estos agentes y otros agentes quimioterapéuticos pueden deberse al menos en parte a una toxicidad específica mediada por el complemento. Esto se observa en la Figura 6. Todos estos agentes activan significativamente el Complemento 3, y esta actividad se bloquea en gran medida por PLAG.

**Ejemplo 4 - Protección *in vivo* contra trombocitopenia en ratones (no es parte de la invención)**

Para evaluar el efecto de PLAG sobre la concentración de plaquetas, los ratones se tratan con compuestos que se espera que provoquen reducciones en el número de plaquetas, específicamente fenilhidrazina, tamoxifeno o lipopolisacárido.

Los ratones se inyectan con 100 mg/kg de fenilhidrazina (PHZ), i.p., para inducir anemia y reducir las plaquetas. Se administran 5 mg/kg de PLAG a los ratones por vía oral y se toman muestras de sangre a los 3 y 13 días después. Además, a efectos de comparación, los ratones normales que no se tratan con fenilhidrazina se preparan como un grupo normal, y los ratones tratados con PHZ y aceite de oliva en lugar de PLAG se preparan como grupo de control.

Las muestras de sangre tomadas de los ratones se tratan con 0,5 ml de EDTA (tubo Minicollect, Greiner bio-one, Austria) y se mide la concentración de plaquetas usando un analizador automático de muestras de sangre BC-6800 (Mindray, Shenzhen, China) mediante número de plaquetas por ml (k: 1.000). Los resultados se muestran en la Tabla 1.

5

Tabla 1

	normal	Grupo de control tratado con PHZ + aceite (día 3)	Grupo tratado con PHZ + PLAG (día 3)
Conc. de plaquetas (días 3) (k/ul)	964,4±57,4	851±44,5	1072±125,4
Conc. de plaquetas (días 13) (k/ul)	1002,4±36,8	1051± 55,4	1188,8±115,6

El experimento se repite usando Tamoxifeno (Tam), un agente anticanceroso, inyectado en una cantidad de 100 mg/kg, o lipopolisacárido (LPS), un inductor de inflamación, en una cantidad de 1 mg/kg para inducir la reducción de plaquetas. La concentración de plaquetas se mide 15 horas después del tratamiento con PLAG. A efectos de comparación, se usa aceite de oliva y PBS en lugar de PLAG como controles, respectivamente, para el experimento de Tamoxifeno y lipopolisacárido. Los resultados se muestran en las Tablas 2 y 3.

10

Tabla 2

	normal	Grupo de control tratado con Tam + aceite (después de 15 horas)	Grupo tratado con Tam + PLAG (5 mg/kg) (después de 15 horas)
Conc. de plaquetas (k/ul)	1015,7±33,5	459±171,1	780,7±195,9

15

Tabla 3

	normal	LPS + PBS	LPS + PLAG(1 mg/kg)	LPS + PLAG (2 mg/kg)
Conc. de plaquetas (k/ul)	1005,50±140,7	423,33±55,2	450,00±101,8	553,33±42,0

La concentración normal de plaquetas es de 400 a 1600 k/ul y puede variar según el entorno. Las tablas 1-3 muestran que cuando la administración de estos compuestos produce artificialmente la anemia, la concentración de plaquetas en la sangre disminuye y, tras la administración de PLAG a estos pacientes, se recupera la concentración de plaquetas.

20

**Ejemplo 5 - Efecto de PLAG sobre los niveles de neutrófilos en relación con otros leucocitos en ratones**

**Neutrófilos y linfocitos:** Para observar la proporción de neutrófilos y linfocitos en la sangre de ratones Balb/C, se inyecta 1 mg/kg de lipopolisacárido (LPS) en ratones, i.p. para inducir inflamación. administran 5 mg/kg de PLAG a los ratones por vía oral y se toman muestras de sangre a los 3 y 13 días después. Además, a efectos de comparación, los ratones normales que no reciben tratamiento con PLAG, reciben PBS (solución salina tamponada con fosfato) y aceite de oliva. Las muestras de sangre tomadas de los ratones se tratan con una botella de EDTA de 0,5 ml (tubo Minocollect, Greiner bio-one, Austria) y el nivel de neutrófilos (NEU) y linfocitos (LYM) como un porcentaje de leucocitos totales se mide usando un analizador automático de muestras de sangre BC-6800 (Mindray, Shenzhen, China). Tal como se muestra en la Tabla 4, el nivel relativo de neutrófilos aumentó en respuesta a LPS y aún más en respuesta a LPS + PLAG.

25

30

Tabla 4

	normal	Gupo de control tratado con LPS + PBS	Grupo de control tratado con LPS + aceite	Grupo tratado con LPS + PLAG
Proporción de neutrófilos (%)	16,4±0,1	36,9±10,3	36,2±3,2	53,2±6,3
Proporción de linfocitos (%)	79,7±1,9	50,9±15,5	49,7±2,2	34,6±7,0

35

**Monocitos:** Excepto por el uso del ratón C57BL/6 en lugar del ratón Balb/C, los ratones se tratan de la misma manera que en el Ejemplo 6, se mide la proporción de monocitos (Mono) respecto a leucocitos totales y los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5

	normal	Grupo de control tratado con LPS + PBS	Grupo de control tratado con LPS + aceite	Grupo tratado con LPS + PLAG
Proporción de monocitos (%)	1,9±0,2	2,0±2,4	1,6±0,8	18,4±6,6

- 5 *Proporción de neutrófilos, linfocitos y eosinófilos después del tratamiento de Tamoxifeno y PLAG:* Se usan 100 mg/kg del agente anticancerígeno Tamoxifeno (Tam) para inducir la reducción de neutrófilos, seguido de tratamiento con 5 mg/kg de PLAG y se miden las proporciones de neutrófilos (NEU), linfocitos (LYM) y eosinófilos (EOS) después de 15 horas como en el experimento anterior. El resultado se presenta en la Tabla 6.

Tabla 6

	normal	Grupo de control tratado con Tam + aceite	Grupo tratado con Tam + PLAG
Proporción de neutrófilos (%)	39,9±7,4	25,1 ± 8,0	35,2±2,4
Proporción de Eosinófilos (%)	3,9±1,3	6,4±4,0	15,1 ± 0,3
Proporción de linfocitos (%)	49,6±7,3	66,4±8,8	45,7±4,1

- 10 Aunque la concentración de cada leucocito se puede cambiar dependiendo de las condiciones del sujeto, en los presentes experimentos, el intervalo normal de proporción de neutrófilos en leucocitos es de 7-50 % y la proporción de linfocitos es de 42-92 %. Tal como se muestra en las Tablas 4 y 5, tras el tratamiento de LPS y PLAG, las proporciones de neutrófilos y monocitos aumentaron significativamente, mientras que la proporción de linfocitos disminuyó. La Tabla 6 muestra que PLAG generalmente mantiene las proporciones normales de neutrófilos, linfocitos  
15 y eosinófilos contra la exposición a tamoxifeno.

#### **Ejemplo 6 - Eficacia de PLAG sobre la reducción de la migración de neutrófilos**

- 20 Los ratones se inyectan con lipopolisacárido bacteriano (LPS) para provocar una respuesta inflamatoria, en presencia o ausencia de PLAG:

Tabla 7

	Control	LPS solo	LPS + PLAG
Recuento de neutrófilos (k/μl) en sangre	1,12	1,25	3,41
Recuento de neutrófilos (k/μl) en linfa	1,44	3,24	1,48

- 25 Mientras que PLAG potencia los niveles de neutrófilos en la sangre, inhibe la migración a los ganglios linfáticos.

#### **Ejemplo 7 - Eficacia de PLAG en combinación con G-CSF en modelo de ratón**

- 30 Los ratones reciben ciclofosfamida (100 mpk, i.p.) durante un período de diez días, con o sin G-CSF (0,25 mpk, i.p.) o G-CSF (0,25 mpk, i.p.) más PLAG (25 mpk, p.o.):

Tabla 7

	Solo Ciclofosfamida	G-CSF	G-CSF + PLAG
Glóbulos blancos (WBC por sus siglas en inglés) (k/μl)	3,34	5,37	8,68
Neutrófilos (k/μl)	2,39	4,36	7,45

- 35 La dosificación de G-CSF en este experimento es una dosificación eficaz, y existe un límite superior sobre el efecto de G-CSF, independientemente de la dosis, así como un nivel superior debido a los efectos secundarios. En este experimento, PLAG proporciona un aumento de más del 60 % de WBC y más del 70 % de neutrófilos frente a G-CSF solo. PLAG más G-CSF, por lo tanto, proporciona un beneficio mayor que el que se puede lograr solo con G-CSF, que es un nuevo efecto técnico sorprendente e importante. La adición de PLAG a G-CSF eleva los niveles de glóbulos blancos y neutrófilos a los niveles de ratones no tratados, proporcionando una protección sustancialmente completa  
40 contra la neutropenia inducida por ciclofosfamida.

**Ejemplo 8 - Estudio Clínico: Actividad de PLAG sobre el Complemento 3**

Se realiza un estudio clínico en el Centro de Estudios Clínicos del Hospital MyungJi de la Universidad de Gwandong en la República de Corea con 27 pacientes sanos para estudiar el efecto inmunomodulador de PLAG. Los voluntarios son evaluados durante 30 días *in vivo* como administración oral (500 mg de PLAG por día) bajo una aprobación clínica legítima. El complemento 3 se cuenta utilizando el kit de ensayo C3. El resultado del análisis se muestra en la Fig. 7, y el cambio de inmunoadtividad por la administración de PLAG en sujetos sanos se muestra en la Tabla 8 (efecto de la suplementación con PLAG sobre la función inmunitaria de la sangre periférica después de una intervención de 4 semanas). Como se muestra en la Figura 7 y en la Tabla 8, la mayoría de aquellos que consumen PLAG durante un mes (veintiséis (26) sujetos de 27 pacientes) muestran una disminución del complemento 3 (C3), mientras que el grupo de control, que reciben tratamiento con aceite de soja, muestran tanto aumento como disminución de C3. La concentración promedio de C3 en sangre muestra una disminución de aproximadamente 10 mg/dl después de la administración de PLAG con un valor p de <0,001.

Tabla 8

	Control (n=22)			PLAG (n=27)		
	Antes	Después	Valor de P	Antes	Después	Valor de P
C3, mg/dl	102,6±22,5	97,5±13,4	0,131	109,5±13,0	99,7±12,4	< 0,001
C4, mg/dl	19,6±5,7	19,6±5,5	0,927	21,6±6,6	20,8±5,6	0,187

**Ejemplo 9 - Estudio Piloto: Actividad de PLAG sobre trombocitopenia y neutropenia en pacientes que reciben quimioterapia (solo una parte de la invención en la medida en que el tratamiento abarca la protección de neutrófilos o el tratamiento de neutropenia)**

Se administra PLAG a dieciséis pacientes con cáncer de páncreas después de la quimioterapia. Los sujetos de este estudio son pacientes con cáncer de páncreas que no se pueden operar con un estado de rendimiento ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) de "0" o "1", es decir., pacientes en buen estado físico sin mucho dolor, capaces de disfrutar de un estilo de vida casi normal y, por lo tanto, elegibles para tratamiento contra el cáncer durante al menos 2 meses. Los pacientes con cáncer de páncreas son pacientes "localmente avanzados" que tienen metástasis tumoral a los vasos principales alrededor del páncreas o pacientes con "Metástasis a distancia" con metástasis a distancia en hígado, pulmón, hueso, etc. El estado de rendimiento ECOG "0" se refiere a un paciente asintomático, completamente activo, capaz de realizar todas las actividades previas a la enfermedad sin restricciones, sin dolor y sin problemas para un estilo de vida normal, mientras que "1" se refiere a un paciente sintomático pero completamente ambulatorio, con dolor medio y un pequeño problema para la vida normal. El Régimen Anticancerígeno (tratamiento combinado de Gemcitabina y Erlotinib) es el siguiente: Se inyectan 1.000 mg de Gemcitabina una vez por semana durante tres semanas (Día 1, Día 8, Día 15), y no se inyecta en la siguiente semana (Día 22). Por lo tanto, 1 ciclo de tratamiento contra el cáncer requiere 1 mes. Se administran 100 mg de Erlotinib (Tarceva) una vez al día todos los días por vía oral. También se administran 1.000 mg de PLAG una vez al día por vía oral, comenzando desde 3 días antes del tratamiento contra el cáncer hasta el último tratamiento de quimioterapia. El grupo de tratamiento con PLAG y el grupo de control completaron dos ciclos de tratamiento contra el cáncer. No hay diferencia entre los grupos de control y de tratamiento con PLAG en la cantidad o el esquema de tratamiento contra el cáncer.

**Efecto sobre las Plaquetas:** En el grupo de tratamiento con PLAG, no hay pacientes a quienes se deba posponer el tratamiento contra el cáncer o que se deba ajustar la dosis debido a que el número de plaquetas disminuye a menos de 50.000/ $\mu$ l. En el grupo de tratamiento con PLAG, tampoco hay un paciente cuyo número de plaquetas se reduzca a menos de 25.000/ $\mu$ l, lo que significa clínicamente un alto riesgo de sangrado. Entre los 16 pacientes en el grupo de tratamiento con PLAG, 7 pacientes (43,8 %) tienen una disminución > 50 % en el recuento de plaquetas, 4 pacientes (25 %) tienen una disminución > 60 % y ninguno tiene una disminución > 70 %.

En el grupo de control, 5 pacientes (15,6 %) entre los que recibieron tratamiento contra el cáncer tienen un número de plaquetas <50.000 con alto riesgo de sangrado, lo que significa que el tratamiento contra el cáncer necesitaría posponerse o ajustarse la dosis, y 1 paciente (3,1 %) tiene disminución de plaquetas a <25.000/ $\mu$ l, presentando un riesgo grave de sangrado interno crítico. 24 pacientes (75 %) tienen disminución de plaquetas de más del 50 %, 14 pacientes (43,8 %) tienen disminución de plaquetas de más del 60 %, 6 pacientes (18,8 %) tienen una disminución de plaquetas de más del 70 %, y 4 pacientes (12,5 %) tienen una disminución de plaquetas de más del 75 % (Véase la Fig. 8).

**Efecto sobre los neutrófilos:** En el grupo de tratamiento con PLAG, 6 pacientes (37,5 %) tienen disminución de neutrófilos (Recuento Absoluto de Neutrófilos: ANC) a menos de 1.500/ $\mu$ l; 3 pacientes (18,8 %) tienen disminución de neutrófilos a menos de 1.000/ $\mu$ l; ninguno disminuye a menos de 500/ $\mu$ l; 6 pacientes (37,5 %) tienen disminución del número de neutrófilos a menos del 50 %; 3 pacientes (18,8 %) tienen disminución del número de neutrófilos a menos del 60 %, y ninguno tiene disminución del número de neutrófilos a menos del 75 %.

En el grupo de control, 26 pacientes (81,3 %) tienen disminución de neutrófilos a menos de 1.500/ $\mu$ l; 13 pacientes (40,6 %) tienen disminución de neutrófilos a menos de 1.000/ $\mu$ l; 2 pacientes (6,3 %) tienen disminución de neutrófilos a menos de 500, por lo que los tratamientos contra el cáncer deben interrumpirse para los pacientes; 29 pacientes (90,6 %) tienen una disminución de neutrófilos de más del 50 %; 21 pacientes (65,6 %) tienen una disminución de neutrófilos de más del 60 %; y 12 pacientes (37,5 %) tienen una disminución de neutrófilos de más del 75 % (Véase la Fig. 9). En el grupo de control, se encontró que 26 pacientes (81,3 %) tienen un alto riesgo de infección durante el tratamiento contra el cáncer con un número de neutrófilos inferior a 1.500, pero en el grupo de tratamiento con PLAG, solo 6 pacientes (37,5 %) tienen un alto riesgo de infección con el número de neutrófilos inferior a 1.500, confirmando, por lo tanto, la eficacia de PLAG. Además, si bien el tratamiento contra el cáncer causa una reducción del 75 % de los neutrófilos en 12 pacientes (37,5 %) en el grupo control, no hay un solo paciente que tenga una reducción del 75 % de los neutrófilos en el grupo de tratamiento con PLAG.

Esta prueba piloto tiene un valor p estadísticamente significativo de  $<0,05$  entre los grupos de tratamiento y control. Los resultados muestran que la quimioterapia reduce los niveles de neutrófilos y plaquetas en ambos grupos, pero significativamente menos en el grupo con PLAG. Los pacientes del grupo con PLAG no solo tienen un riesgo menor de trombocitopenia y neutropenia, sino que, en consecuencia, están en mejores condiciones para completar su quimioterapia, lo que significa que se espera que tengan una mejor oportunidad de sobrevivir al cáncer. Por lo tanto, el resultado muestra que PLAG es altamente eficaz para el tratamiento y manejo de trombocitopenia y leucopenia en pacientes con cáncer que reciben quimioterapia.

#### **Ejemplo 10 - Formulación de dosificación unitaria**

Se prepara una cápsula de gelatina blanda a modo de ejemplo para su uso en los métodos descritos en el presente documento, que contiene (i) PLAG y (ii)  $\alpha$ -tocoferol, que tiene una composición como sigue:

Tabla 9 Composición de las Cápsulas de Gelatina Blandas de PLAG

Componente	Función	Fórmula Unitaria
PLAG	Principio activo	500,0 mg
$\alpha$ -tocoferol	Antioxidante	1,0 mg

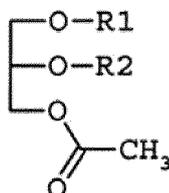
Tabla 10 Composición de los Revestimientos de las Cápsulas Blandas

Ingredientes	Función
Gelatina	Cubierta de cápsula
Glicerina concentrada	Plastificante
Metil para-oxibenzoato	Conservante
Propil para-oxibenzoato	Conservante
Etil vanilina	Aroma
Dióxido de titanio	Colorante
Color de alquitrán, MFDS notificado Azul N.º 1	Colorante
Color de alquitrán, MFDS notificado Rojo N.º 40	Colorante
Color de alquitrán, MFDS notificado Amarillo N.º 203	Colorante
Agua purificada	Vehículo

## REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en el tratamiento de neutropenia, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula 1:

5

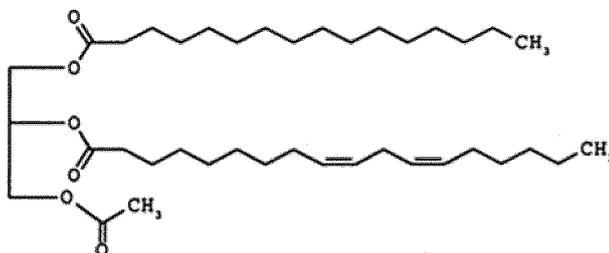


en la que R1 y R2 son independientemente un resto de ácido graso de 14 a 22 átomos de carbono.

10 2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que R1 y R2 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en palmitoílo, oleoílo, linoleoílo, linoleñoílo, estearoílo, miristoílo y araquidonoílo.

15 3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que R1 y R2 (R1/R2) se seleccionan del grupo que consiste en oleoílo/palmitoílo, palmitoílo/oleoílo, palmitoílo/linoleoílo, palmitoílo/linoleñoílo, palmitoílo/araquidonoílo, palmitoílo/estearoílo, palmitoílo/palmitoílo, oleoílo/estearoílo, linoleoílo/palmitoílo, linoleoílo/estearoílo, estearoílo/ linoleoílo, estearoílo/oleoílo, miristoílo/linoleoílo, miristoílo/oleoílo.

20 4. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el compuesto de Fórmula 1 es un compuesto de Fórmula 2:



25 5. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en la que el compuesto de Fórmula 2 se administra en una composición farmacéutica que está sustancialmente libre de otros compuestos de monoacetildiacilglicerol.

6. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el compuesto de Fórmula 2 se administra en una composición farmacéutica que está sustancialmente libre de otro compuesto de triglicéridos.

30 7. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la neutropenia está provocada en su totalidad o en parte por quimioterapia.

8. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la neutropenia está provocada en su totalidad o en parte por radioterapia.

35

9. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el paciente recibe un agente quimioterapéutico seleccionado de uno o más de ciclofosfamida, doxorubicina, etopósido, ifosfamida, mesna, cisplatino, gemcitabina, tamoxifeno y lenalidomida.

40 10. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el paciente tiene mieloma múltiple, leucemia mielógena crónica (CML), leucemia mieloide crónica o síndrome mielodisplásico.

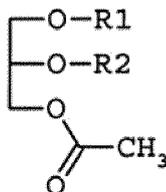
45 11. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que el compuesto de fórmula 1 se administra antes de la quimioterapia mieloablativa, para potenciar los niveles de células progenitoras de sangre periférica, que se recogen para la reintroducción en el paciente después de la quimioterapia mieloablativa, y, opcionalmente, el compuesto de fórmula 1 también se administra a continuación de la quimioterapia mieloablativa.

12. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el tratamiento con el compuesto de Fórmula 1 se suspende durante un periodo de al menos 24 horas antes hasta al menos 24 horas después de la

administración de la quimioterapia.

13. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el tratamiento es profiláctico.

- 5 14. Una composición para su uso en el tratamiento del cáncer, que comprende un agente quimioterapéutico junto con una cantidad protectora de neutrófilos de un compuesto de fórmula 1, en donde el agente quimioterapéutico es se administra a una dosis y/o durante un período de tiempo que provocarían neutropenia en el paciente si el paciente no recibiera el compuesto de fórmula 1:



10

en la que R1 y R2 son independientemente un resto de ácido graso de 14 a 22 átomos de carbono.

- 15 15. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el paciente recibe un agente quimioterapéutico para tratar un cáncer que es estimulado por G-CSF.

16. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el paciente tiene un cáncer hematológico que puede ser inducido o exacerbado por G-CSF, que comprende además un agente quimioterapéutico.

- 20 17. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además una cantidad eficaz de un G-CSF.

18. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición mitiga o trata los efectos secundarios de G-CSF.

25

19. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la composición está en forma de dosis unitarias, y en donde la composición es una cápsula de gelatina blanda para administración oral, que contiene 250-1000 mg de un compuesto de Fórmula 2, sustancialmente libre de otros triglicéridos, junto con 0,1 - 3 mg de un compuesto de tocoferol farmacéuticamente aceptable.

30

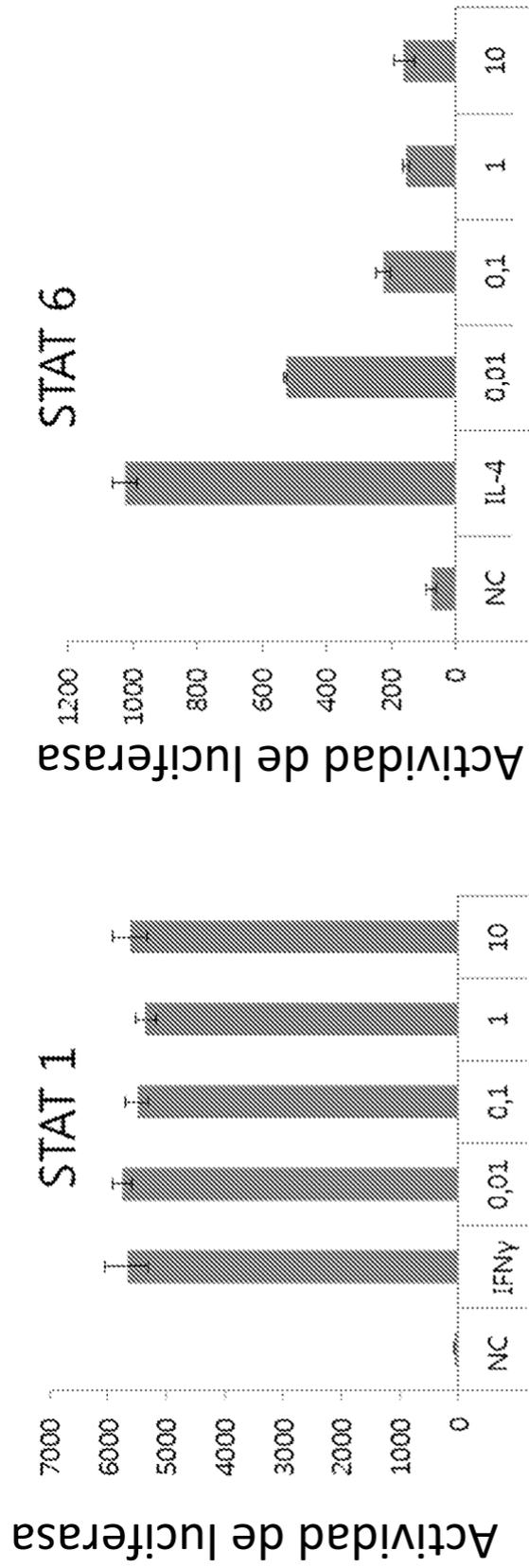


FIG. 1

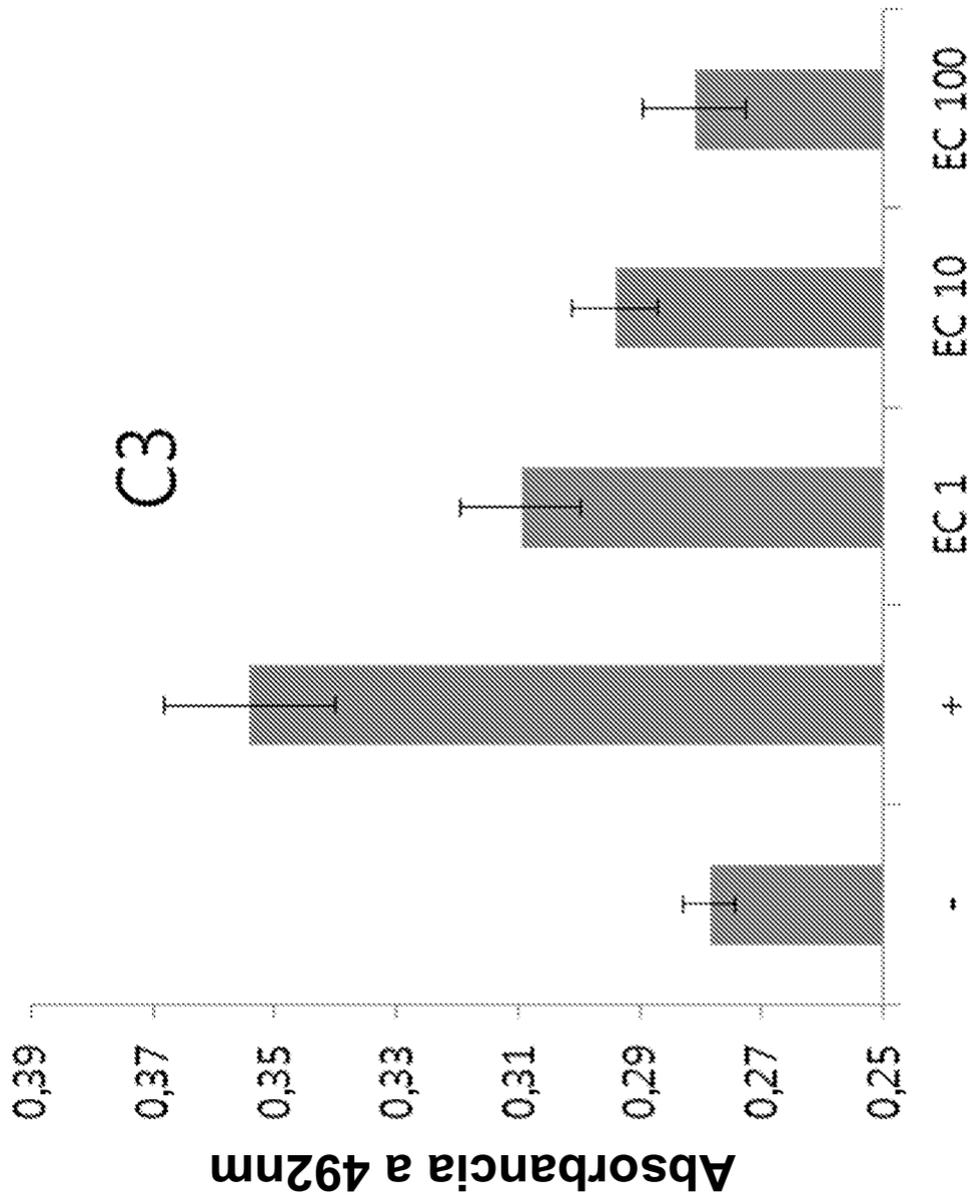


FIG. 2

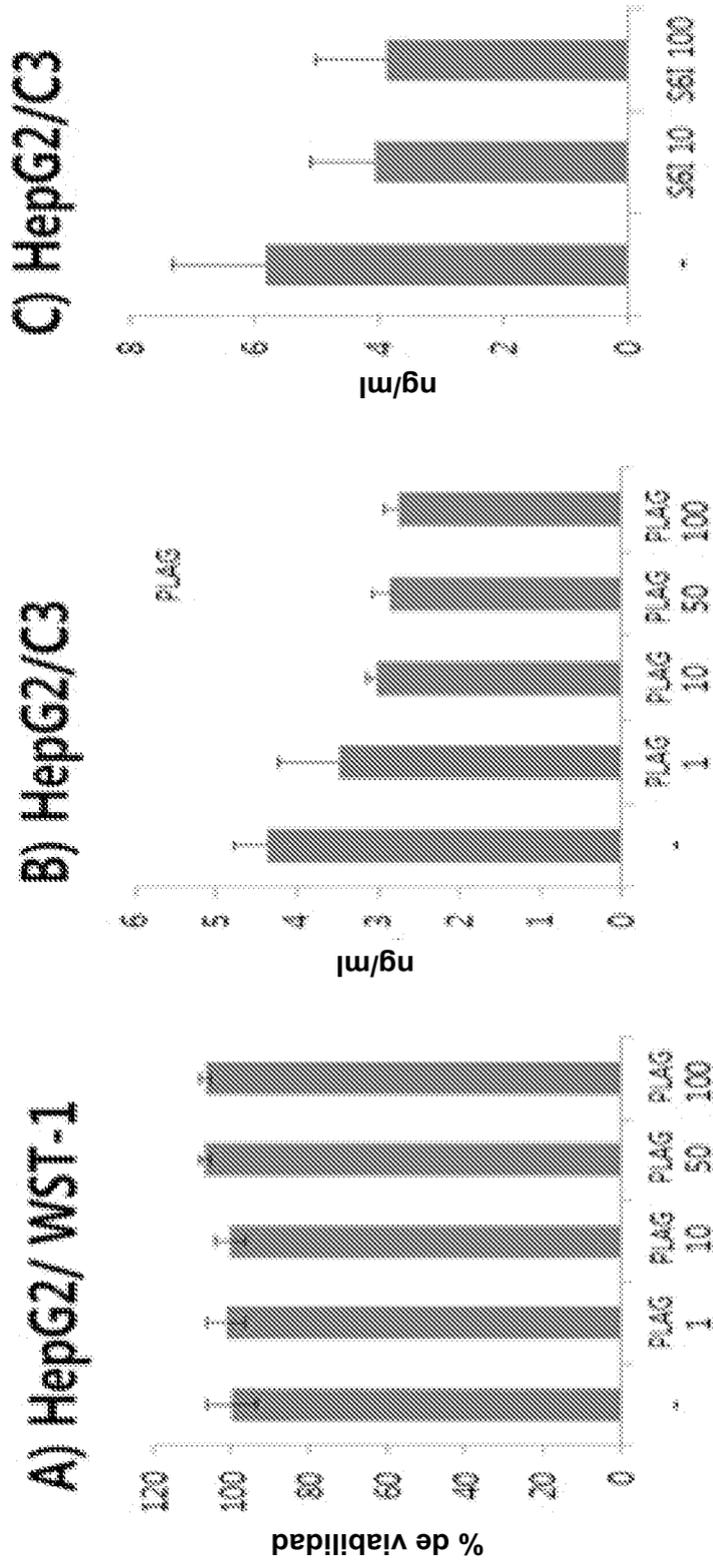


FIG. 3

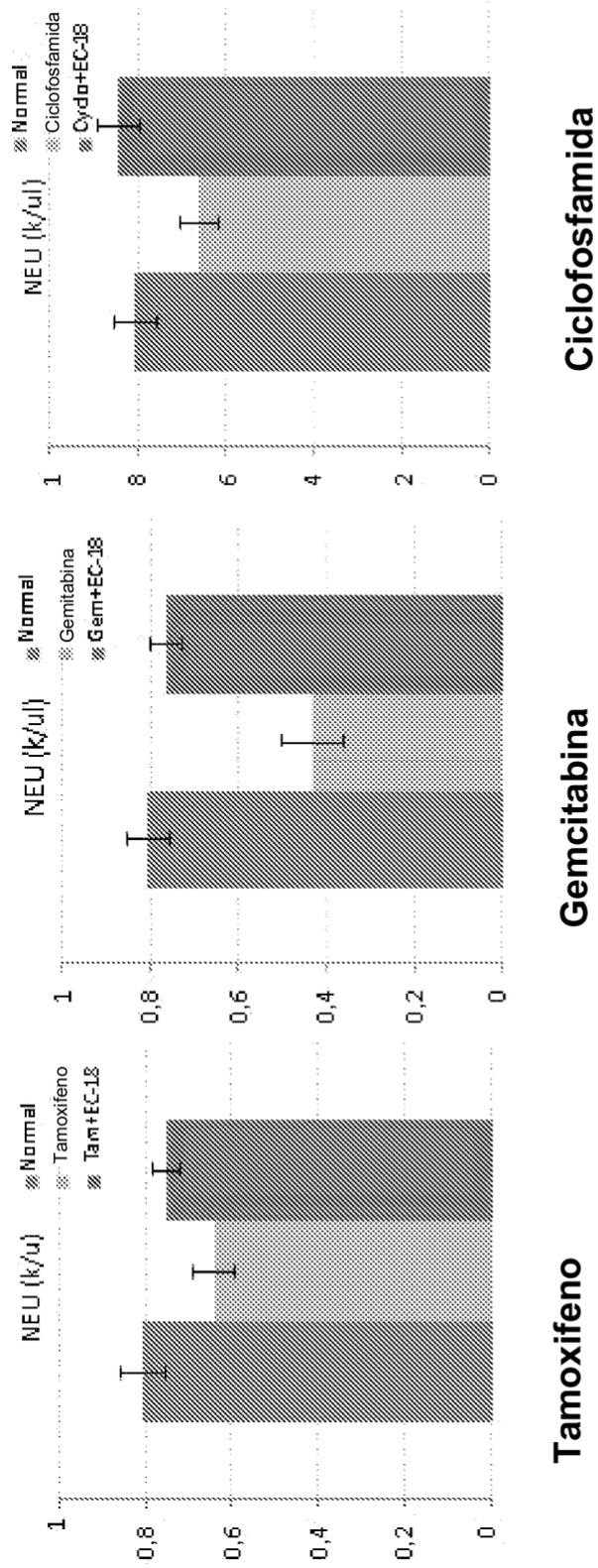


FIG. 4

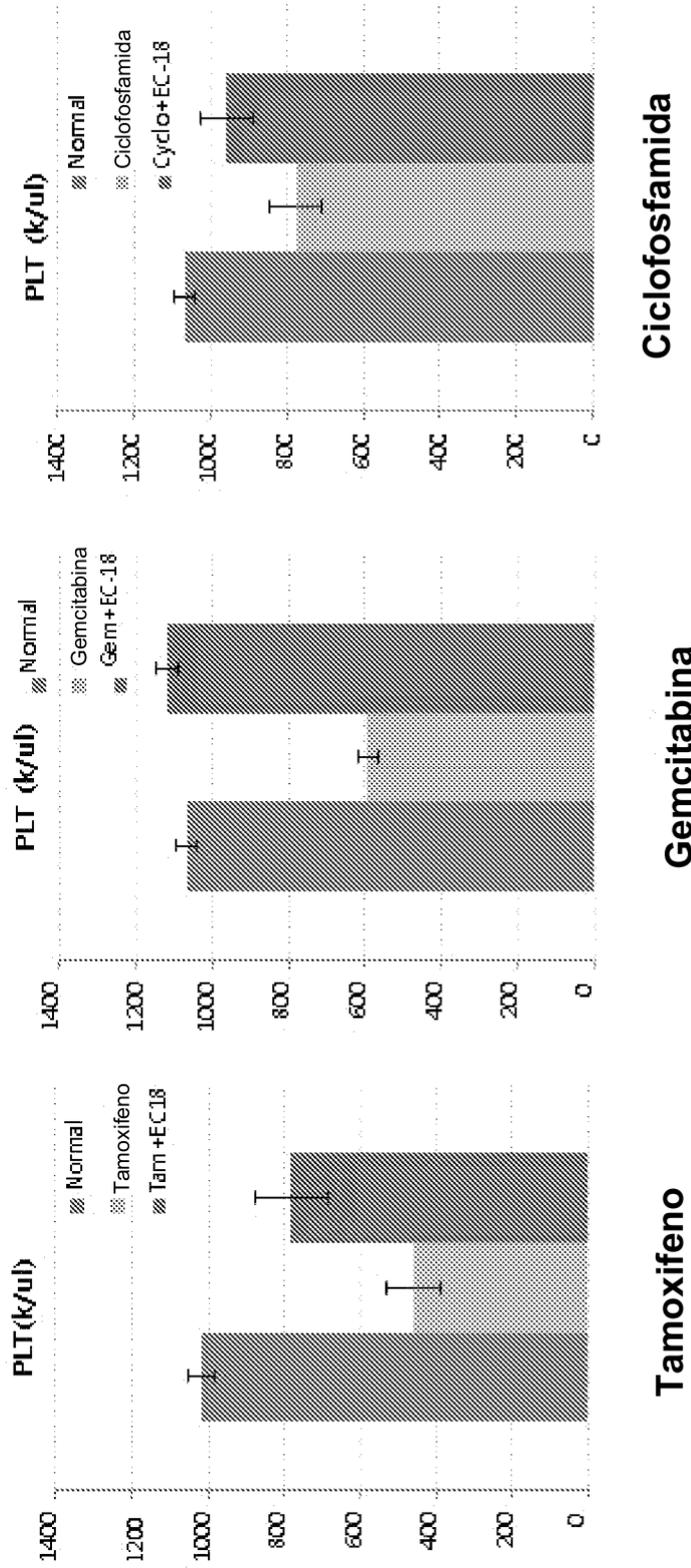


FIG. 5

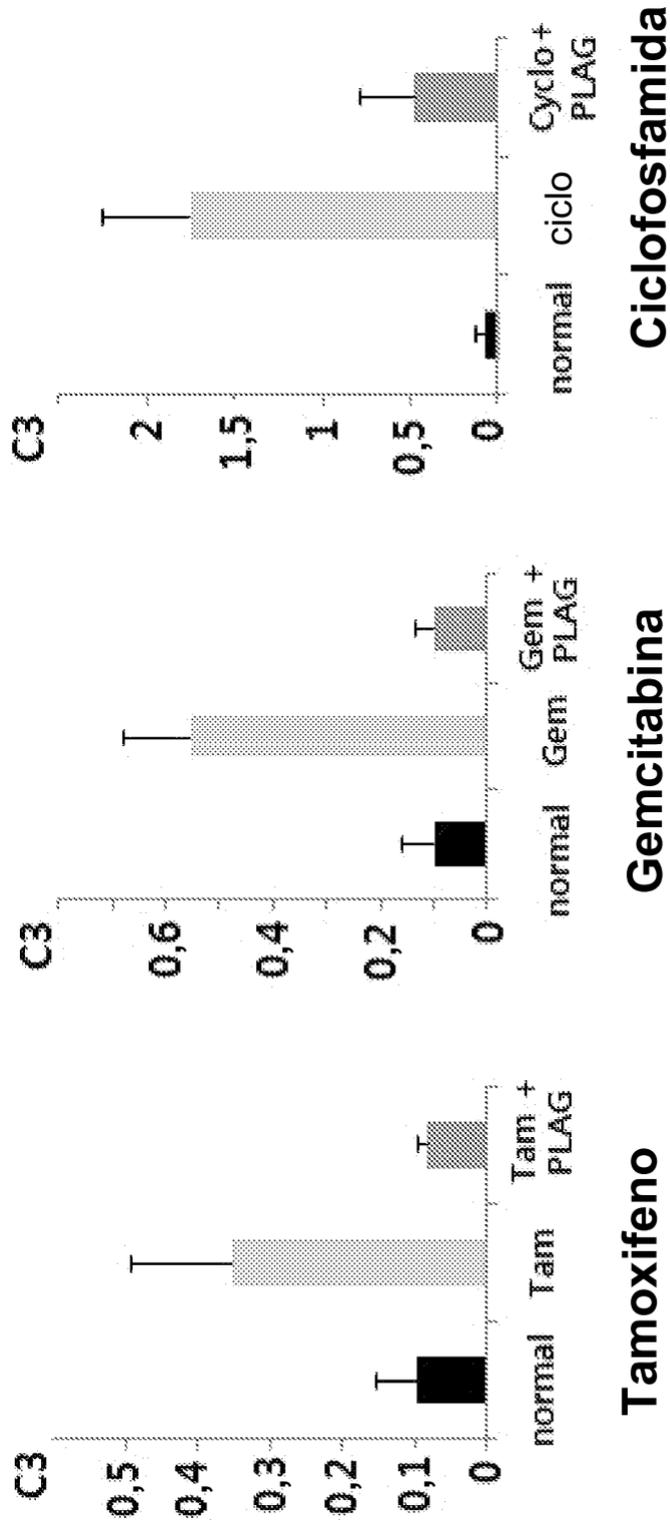


FIG. 6

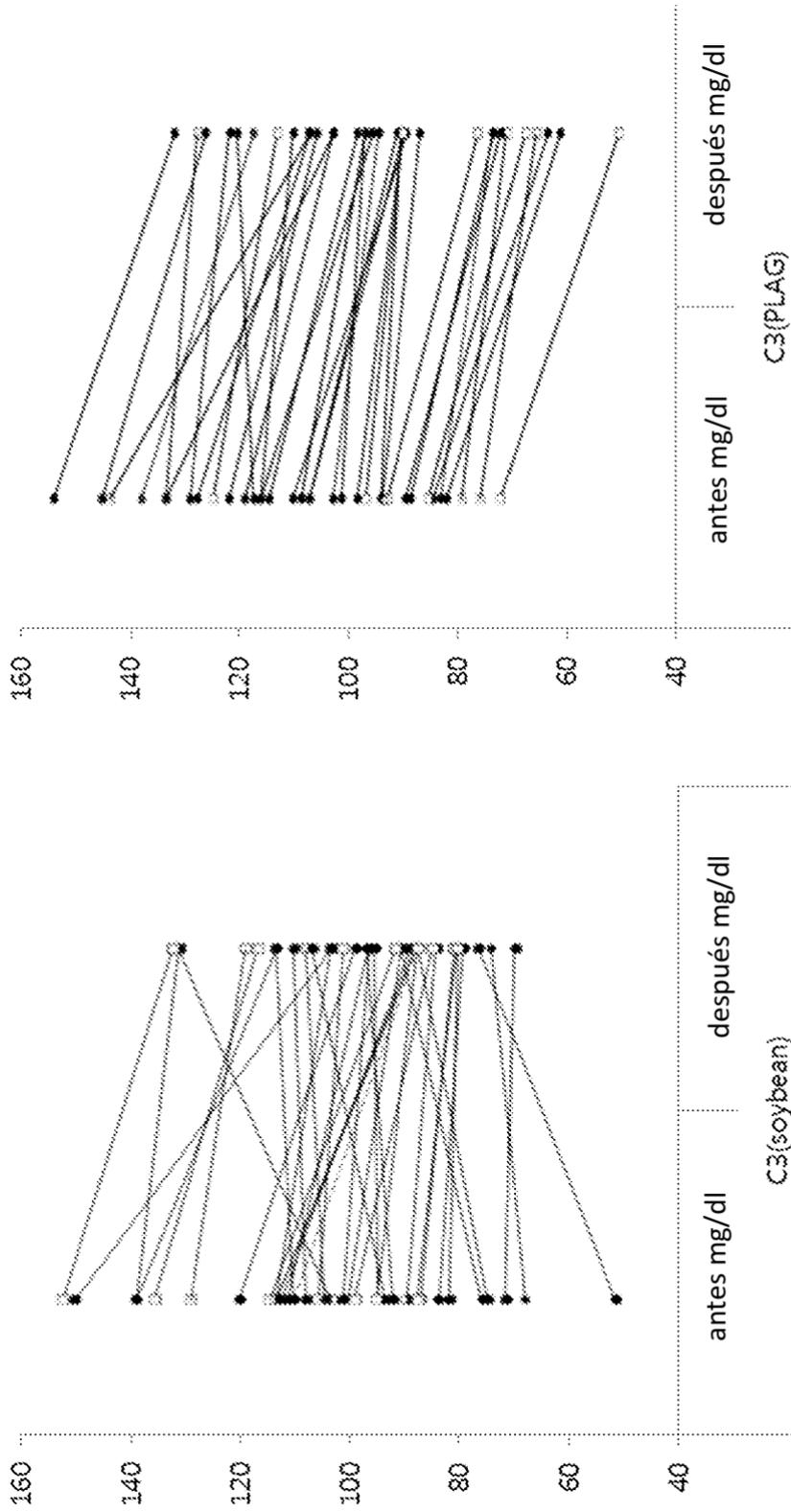
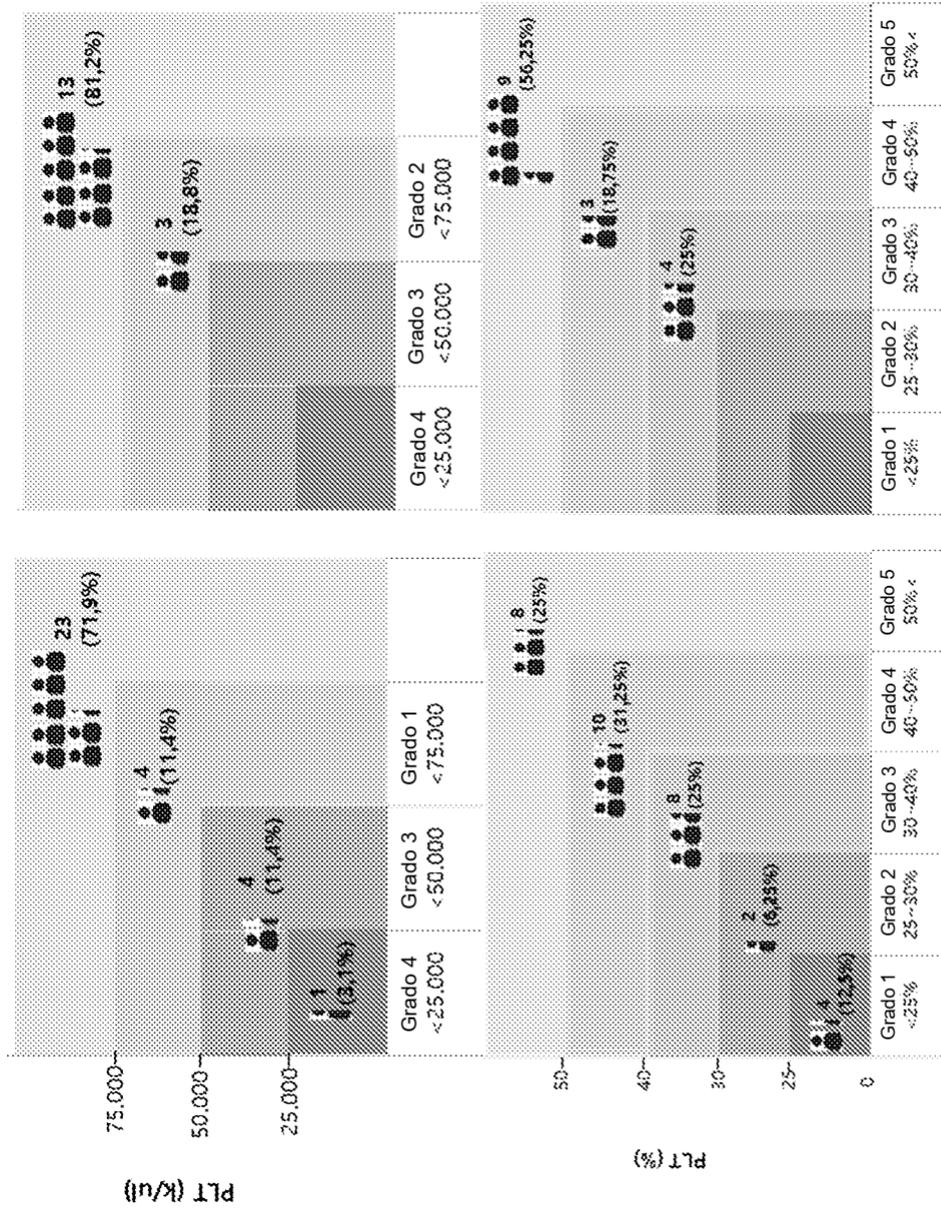


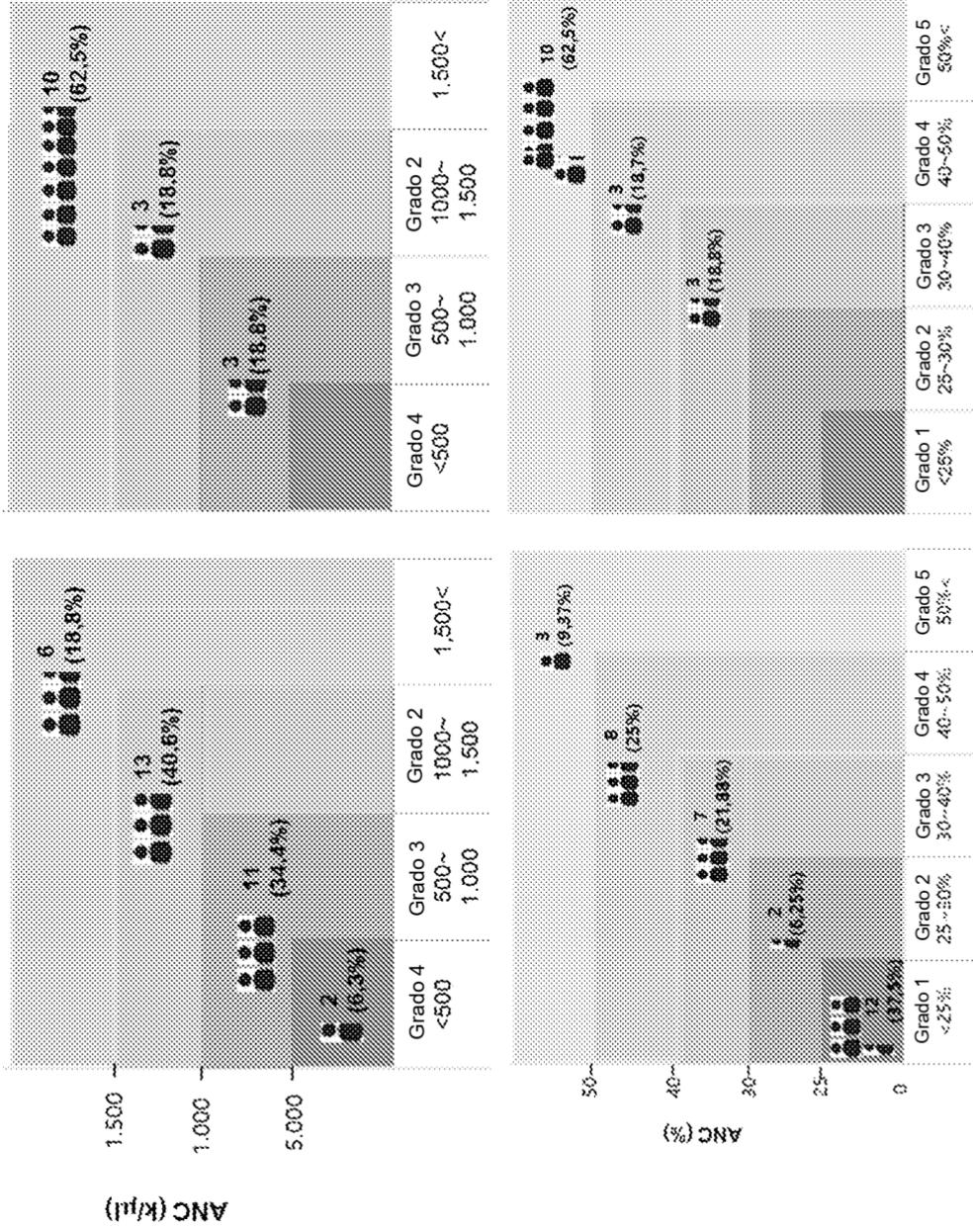
FIG. 7



Grupo de control (N=32)  
 Gemcitabina + Erlotinib solo

Grupo de control (N=16)  
 Gemcitabina + Erlotinib + PLAG

FIG. 8



Grupo de control (N=16)  
Gemcitabina + Erlotinib + PLAG

Grupo de control (N=32)  
Gemcitabina + Erlotinib solo

FIG. 9