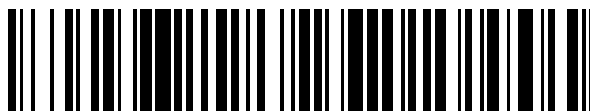


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 775 579**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4745 (2006.01)

A61K 31/475 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.10.2014** **PCT/US2014/059140**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2015** **WO15051302**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2014** **E 14850583 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019** **EP 3052102**

54 Título: **Composiciones para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

04.10.2013 US 201361887285 P

20.12.2013 US 201361919023 P

26.06.2014 US 201462017505 P

15.08.2014 US 201462037868 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.07.2020

73 Titular/es:

APTOSE BIOSCIENCES INC. (100.0%)

2 Meridian Road

Toronto, ON M9W 4Z7, CA

72 Inventor/es:

RICE, WILLIAM, G.

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 775 579 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones para el tratamiento del cáncer

Referencia cruzada a aplicaciones relacionadas

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 61/887,285, presentada el 4 de octubre de 2013, la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 61/919,023, presentada el 20 de diciembre de 2013, la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 62/017,505, presentada el 26 de junio de 2014 y la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 62/037,868, presentada el 15 de agosto de 2014.

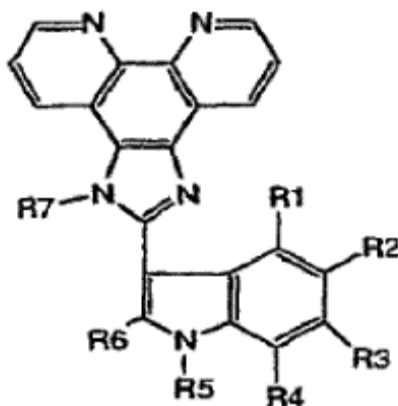
Campo de la invención

La presente invención se refiere en general a composiciones para tratar el síndrome mielodisplásico.

10 Antecedentes de la invención

Se han desarrollado muchos fármacos o candidatos a fármacos para el tratamiento de diversos tipos de cáncer, incluidos algunos compuestos de moléculas pequeñas. Sin embargo, los tratamientos actuales para muchos cánceres no son muy efectivos en pacientes con subconjuntos específicos de cánceres, o son demasiado tóxicos en tales pacientes o en general.

- 15 El documento WO2006/126177A2 informa de compuestos de 2-indolil imidazo [4,5-d]fenatrolina que tienen la siguiente fórmula para su uso en el tratamiento del cáncer



Rob Goldman: "LORUS THERAPEUTICS, INC. The Next Major Oncology Player", 9 October 2012 (2012-10-09), pages 1-13, informa LOR-253 para su uso en el tratamiento del cáncer.

- 20 LUM RONNIE ET AL: "Induction of KLF4 by LOR-253 as an innovative therapeutic approach to induce apoptosis in acute myeloid leukemia", CANCER RESEARCH, vol. 74, no. 19, Suppl. S, October 2014 (2014-10), page 4544, & 105TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH (AACR); SAN DIEGO, CA, USA; APRIL 05 -09, 2014 informan LOR-253 para su uso en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (AML).

- 25 Los síndromes mielodisplásicos (MDS) son un grupo de enfermedades que afectan la médula ósea y la sangre. Algunos tipos de MDS son leves y fáciles de manejar, mientras que otros tipos son graves y potencialmente mortales. Los síndromes mielodisplásicos (MDS) rara vez se curan; La mayoría de los pacientes nunca completan el tratamiento. El tratamiento actual de MDS se basa en la etapa y el mecanismo de la enfermedad que predomina en la fase particular del procedimiento de la enfermedad. El trasplante de médula ósea se ha usado en pacientes con mal pronóstico o MDS en etapa tardía. Epstein and Slease, 1985, *Surg. Ann.* 17:125. Sin embargo, este tipo de
- 30 terapia es dolorosa tanto para el donante como para el receptor, debido a la participación de procedimientos invasivos y puede causar complicaciones graves e incluso fatales al receptor, particularmente con el trasplante alogénico y los resultados relacionados con la enfermedad de injerto contra huésped (GVHD). Por lo tanto, el riesgo de GVHD restringe el uso del trasplante de médula ósea a pacientes con enfermedades de otra manera fatales.
- 35 Además, como la mayoría de los pacientes son ancianos y solo unos pocos pacientes jóvenes con MDS tendrán un donante compatible, el uso de trasplante de médula ósea es limitado. Sigue existiendo la necesidad de métodos más efectivos para tratar el MDS y sus trastornos relacionados.

- El MDS leve puede volverse más severo con el tiempo. También puede convertirse en una leucemia severa de crecimiento rápido, leucemia mielógena aguda (AML). La AML es un subconjunto de leucemia. Es la forma más
- 40 común de leucemia en adultos (cáncer de sangre) con una tasa de supervivencia <20% después de 5 años y menos del 5% si los pacientes tienen > 65 años. Los tratamientos actuales para la AML son quimioterapias duras y

contendientes (tales como citarabina o antraciclina, que no están dirigidas y tienen toxicidades limitantes fuera del objetivo. De este modo, existe una grave necesidad médica no satisfecha de distinguir a los pacientes que son potencialmente sensibles a un determinado tratamiento y los pacientes que no son.

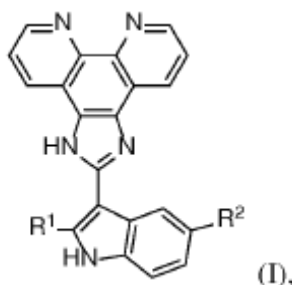
La presente invención satisface esta necesidad y proporciona composiciones para su uso en el tratamiento eficaz del síndrome mielodisplásico.

Resumen de la invención

La presente divulgación proporciona composiciones para su uso en el tratamiento de cánceres. En algunas realizaciones, la presente divulgación se basa, en parte, en el descubrimiento de que la proteína de Homeobox CDX2 relacionada con caudal - vía de señalización del factor 4 tipo a Krüppel (KLF4) ("vía de señalización CDX-KLF4") es importante para la patogénesis de un grupo de cánceres, y que los agentes activos con la capacidad de modular la vía de señalización de CDX2-KLF4 se pueden usar para tratar tales cánceres de manera eficaz.

En un aspecto, la divulgación proporciona composiciones para tratar cánceres. En algunos aspectos, las composiciones comprenden al menos un agente activo anticancerígeno que puede modular la vía de señalización de CDX2-KLF4 en un sujeto humano. Sin desear estar sujeto a ninguna teoría en particular, los agentes anticancerígenos de la presente invención pueden actuar a través de uno o más mecanismos. Tales mecanismos incluyen: (1) inhibición de la actividad de CDX2; (2) inducción de la actividad de KLF4; (3) inducción del inhibidor de p21 CDK; (4) inducción de la detención del ciclo celular G1/S; (5) inducción de la enzima caspasa 3; y (6) inducción de apoptosis. Como se usa en este documento, el término "actividad" de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4 puede ser un parámetro a nivel de ADN genómico, nivel de transcripción, nivel de postranscripción, nivel de traducción, nivel de postraducción, que incluye actividad génica, actividad de ARN y actividad proteica. La actividad del gen puede ser el número de copia del gen, el número de amplificación del gen o la actividad del promotor, etc. La actividad del ARN puede ser abundancia de ARNm, tasa de síntesis y/o estabilidad, etc. La actividad de la proteína puede ser abundancia de proteínas, tasa de síntesis, estabilidad, actividad enzimática, tasa de fosforilación, modificaciones, actividad de unión, etc.

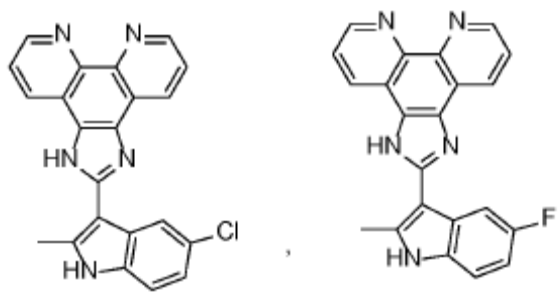
La invención proporciona un compuesto para su uso en el tratamiento de un síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto humano, que comprende administrar a un sujeto humano que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz del compuesto o una sal o solvato farmacológicamente aceptable del mismo, dicho compuesto que tiene la estructura de fórmula I:

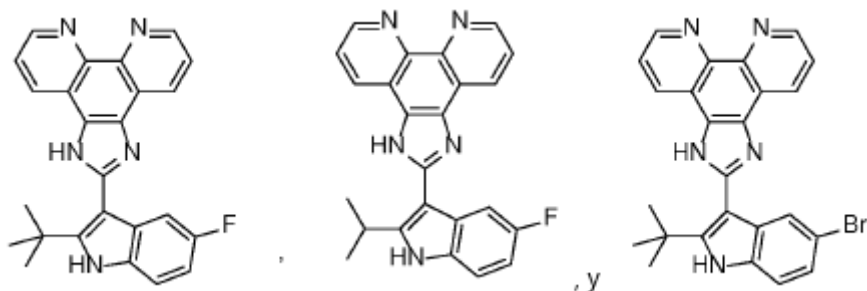


En la que R1 es alquilo C1-C4; y R2 es halógeno. Las características opcionales de la invención se definen en las reivindicaciones dependientes.

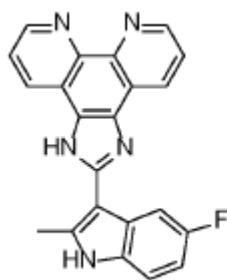
En algunas realizaciones, R¹ es metilo, isopropilo o t-butilo.

En algunas realizaciones, el compuesto farmacéutico se selecciona del grupo que consiste en:





En algunas realizaciones, el compuesto farmacéutico tiene la estructura de fórmula II:



(II). (también conocida como LOR-253 o APTO-253)

En algunas realizaciones, el cáncer está asociado con una actividad anormal de la vía de señalización de CDX2-KLF4 en el sujeto humano. En algunas realizaciones, uno o más componentes en la vía de señalización de CDX2-KLF4 tienen actividad anormal en comparación con la actividad de un grupo de control. En algunos aspectos no reivindicados, el cáncer es leucemia/linfoma. En algunas realizaciones, el MDS es MDS de alto riesgo. En algunos aspectos no reivindicados, el cáncer es leucemia mielógena aguda (AML). En algunos aspectos no reivindicados, la AML es AML refractaria. En algunos aspectos no reivindicados, la AML es AML de edad avanzada. En algunos otros aspectos no reivindicados, el cáncer es la leucemia linfocítica aguda (ALL). En algunos aspectos no reivindicados, la ALL es una ALL pediátrica. En algunos aspectos no reivindicados, la ALL pediátrica es ALL de células T pediátrica o ALL de células B pediátrica. En algunos otros aspectos no reivindicados, el cáncer es leucemia mielógena crónica (CML). En algunos aspectos no reivindicados, el cáncer es la leucemia de células T en adultos (ATLL). En algunos aspectos no reivindicados, el cáncer es causado por el virus linfotrófico T humano tipo 1. En algunos aspectos no reivindicados, el cáncer es linfoma, cáncer gástrico o mieloma múltiple. En algunos aspectos no reivindicados, el linfoma es el linfoma de Hodgkin, el linfoma no Hodgkin (NHL), el linfoma de Burkitts o el linfoma de células B. En aspectos no reivindicados, el cáncer es una combinación de cualquiera de los cánceres descritos en este documento.

En algunas realizaciones, el sujeto humano tiene uno o más síntomas de MDS. En algunas realizaciones, el sujeto humano que se va a tratar tiene una producción ineficaz de células sanguíneas, tales como células sanguíneas mieloides. En algunas realizaciones, el sujeto humano tiene una anemia. En algunas realizaciones, el sujeto humano tiene recuentos sanguíneos bajos causados por insuficiencia de la médula ósea.

En algunas realizaciones, un compuesto anticancerígeno de la presente invención se administra a un sujeto humano que lo necesita como parte de una terapia de combinación. En algunas realizaciones, la terapia de combinación comprende radioterapia. En algunas realizaciones, la terapia de combinación comprende quimioterapia.

En algunas realizaciones, una cantidad eficaz del agente anticancerígeno es eficaz para tratar el cáncer o los síntomas del cáncer, eficaz para inhibir la proliferación de células cancerosas, o eficaz para prevenir o reducir la gravedad de una futura aparición de cáncer cuando se administra a un sujeto que es susceptible y/o que puede desarrollar un cáncer o síntomas del cáncer. En algunas realizaciones, la administración del agente anticancerígeno proporciona un efecto terapéutico estadísticamente significativo o eficacia clínica para tratar el cáncer. En algunas realizaciones, un compuesto anticancerígeno de la presente invención se administra con una dosis de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 200 mg. En algunas realizaciones, un compuesto anticancerígeno de la presente invención se administra con una dosis de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 100 mg. En algunas realizaciones, un compuesto anticancerígeno de la presente invención se administra con una dosis de aproximadamente 1.0 a aproximadamente 50 mg. En algunas realizaciones, las dosificaciones diarias de los compuestos de la presente invención por lo general caen dentro del intervalo de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, o dentro del intervalo de aproximadamente 20 mg/m² a aproximadamente 400 mg/m² en una sola o dosis dividida. En algunas realizaciones, un compuesto anticancerígeno de la presente invención se administra una vez, dos, tres veces o más por día.

En algunas realizaciones, el tratamiento dura 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más ciclos. En algunas realizaciones, cada ciclo dura al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más días. En algunas realizaciones, la brecha entre dos ciclos es al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más días.

En algunas realizaciones, el agente anticancerígeno es una forma de dosificación unitaria.

- 5 En este documento también se describe un método para tratar la AML, en el que el compuesto es LOR-253 (a. k. a. APTO-253), y el compuesto se administra con una dosis de aproximadamente 125 mg/m². El compuesto se puede administrar dos veces por semana durante cuatro semanas.

10 La invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento de una afección asociada con la actividad anormal de la vía de señalización de CDX2-KLF4. En algunas realizaciones, la condición está asociada con la actividad anormal de uno o más componentes de la vía de señalización de CDX2-KLF4, tales como CDX2, KLF4, p21, y/o p53 en un sujeto humano. En algunas realizaciones, la condición se asocia con nivel anormal (por ejemplo, inferior al normal) de la actividad KLF4. En algunas realizaciones, la condición se asocia con nivel anormal (por ejemplo, superior al normal) de la actividad CDX2. En algunas realizaciones, el nivel anormal de CDX2 se debe a una alteración genética de CDX2.

- 15 En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención comprenden además determinar la actividad de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4, tal como la actividad de KLF4 y/o la actividad de CDX2 en el sujeto humano antes, durante y/o después del tratamiento. En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención comprenden además determinar la presencia o ausencia de una alteración genética de CDX2.

Aspectos adicionales y realizaciones de la invención serán evidentes a partir de la descripción detallada que sigue.

20 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama del mecanismo no limitante de cómo un agente activo de la presente invención (por ejemplo, fórmula I, también conocida como LOR-253 o APTO-253) trata el cáncer. Sin desear limitarse a ninguna teoría en particular, en ciertos tipos de cáncer, tales como los tumores sólidos, KLF4 está regulado a la baja, lo que es esencial para la proliferación celular acelerada, la transición epitelial-mesenquimatoso (EMT) y la metástasis; en ciertos cánceres hematológicos: KLF4 está regulado a la baja, lo cual es esencial para la leucemogénesis. LOR-253 induce la expresión de KLF4 que a su vez inhibe la proliferación de células cancerosas, EMT y metástasis, y/o desencadena la apoptosis.

La figura 2 es un diagrama que muestra un mecanismo no limitante de cómo funciona CDX2 en ciertos tipos de cáncer y cómo LOR-253 trata tales cánceres. Sin desear estar sujeto a ninguna teoría en particular, en las células normales del sistema hematopoyético, el gen CDX2 se desactiva o se expresa a un nivel relativamente bajo. En ciertos tipos de cáncer que incluyen AML, CDX2 se activa o aumenta, lo que conduce a un factor de transcripción de CDX2 expresado de manera aberrante. CDX2 se une a la región promotora del gen KLF4 e inhibe la expresión de KLF4, que es una etapa esencial para promover la leucemogénesis. LOR-253 induce la expresión de KLF4 que a su vez desencadena la apoptosis de los leucocitos cancerosos.

35 La figura 3 es una representación gráfica del efecto de LOR-253 sobre la proliferación de un número de líneas celulares de cáncer *in vitro*. Las células de diversas líneas celulares de cáncer se incubaron con LOR-253 como se describe en los ejemplos, y las concentraciones celulares de diversas líneas celulares para el 50% de la inhibición máxima de la proliferación celular (GI₅₀) por LOR-253 se determinaron y se muestran en la figura.

La figura 4 es una representación gráfica del efecto de LOR-253 sobre los niveles de expresión de KLF4 en dos líneas celulares, THP-1 y HL60.

La figura 5 representa el resultado del ensayo de citómetro de flujo BD FACSCalibur para líneas celulares de AML THP1 y HL-60 tratadas con DMSO o LOR-253 (panel izquierdo). La figura 5 también muestra que el tratamiento de LOR-253 da como resultado la detención del ciclo celular G1/S en líneas celulares THP1 y HL-60 (panel derecho).

45 La figura 6 representa un gráfico de adquisición de citometría de flujo BD FACSCanto para células THP-1 tratadas con DMSO, 0.5 o 1 µM de LOR-253. Las células THP-1 tratadas con LOR-253 mostraron una tinción de anexina V elevada, lo que indica la inducción de apoptosis (Q3: anexina V+/PI-).

La figura 7 representa el nivel de expresión de caspasa 3 en líneas celulares de AML de THP1 y HL-60 tratadas con DMSO o LOR-253.

50 La figura 8 representa el cambio de pliegue en la expresión de BAX y BCL2 en células THP1 tratadas con DMSO o LOR-253 0.5 µM

La figura 9 representa la eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL en ratones modelo de xenoinjerto H226. Se muestran los tamaños de tumor de ratones H226_xenoinjerto tratados con LOR-253 HCL o control negativo medido en los días indicados.

La figura 10 representa la farmacocinética (PK) en ratones desnudos CD-1 tratados con LOR-253 a una dosis de 1, 5 o 15 mg/kg. El nivel en suero de LOR-253 tiene un aumento relacionado con la dosis.

La figura 11 representa las respuestas farmacodinámicas (PD) en ratones tratados durante 5 días consecutivos con 1, 5 y 15 mg/kg de LOR-253. El nivel de proteína KLF4 se midió 16 horas después de la última dosis.

5 La figura 12 representa la contracción del tumor en pacientes con NSCLC (adenocarcinoma mal diferenciado) antes del tratamiento (véase el panel superior) y después del tratamiento (véase el panel inferior).

10 La figura 13 es un diagrama que muestra un mecanismo no limitante de cómo el silenciamiento del gen KLF4 o el producto génico desempeña un papel central en diversas neoplasias malignas del hemo. Por ejemplo, la metilación epigenética del gen KLF4 se refiere a pacientes adultos con linfoma de células T, las mutaciones en genes o proteínas KLF4 se refieren a pacientes pediátricos con ALL de células T, el microARN-2909 elevado se refiere a pacientes pediátricos con ALL de células B, expresión aberrante de CDX2 se refiere a pacientes con AML, ALL y MDS, que conducen al silenciamiento de la actividad de KLF4 (incluidas las actividades de expresión y funcionales). El silenciamiento de KLF4 también se ha observado en diversos linfomas. La parte inferior del diagrama ilustra que el KLF4 silenciado causa una mayor proliferación de células cancerosas a través de diversos "genes del destino celular".

15 La figura 14 es un diagrama que muestra un mecanismo no limitante de cómo la actividad del gen KLF4 puede ser silenciada por mutaciones genéticas o eventos epigenéticos y cómo LOR-253/APTO-253 puede inducir la expresión de KLF4. Tales eventos epigenéticos incluyen la hipometilación o desmetilación del ADN, la expresión aberrante/elevada de CDX2 que puede conducir a una mayor presencia de una desmetilasa KDM5B en una región reguladora aguas arriba del gen klf4 y una cantidad elevada de miR-2909. LOR-253/APTO-253 puede inducir la expresión de KLF4 aliviando el silenciamiento génico causado al menos por CDX2/KDM5B y/u otros mecanismos

La figura 15 representa la eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL en ratones modelo de xenoinjerto Kasumi-1. Se muestran los tamaños de tumor de los ratones de xenoinjerto Kasumi-1 tratados con LOR-253 HCL o control negativo medido en los días indicados.

25 La figura 16 representa las medidas de peso corporal en los días indicados de ratones con tumor de Kasumi-1 tratados con LOR-253 HCL o control negativo.

La figura 17 representa la eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL como agente único o en combinación con azacitidina en ratones modelo de xenoinjerto HL-60. Se muestran los tamaños de los tumores de ratones con xenoinjerto HL-60 tratados con las condiciones indicadas medidas en los días indicados.

30 La figura 18 y la figura 19 representan los tamaños de tumor de animales individuales al principio (día 1) y al final (día 19) del estudio de la figura 17, respectivamente.

La figura 20 representa la eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL en ratones modelo de xenoinjerto KG-1. Se muestran los tamaños de los tumores de ratones de xenoinjerto KG-1 tratados con LOR-253 HCL o control negativo medidos en los días indicados.

35 La figura 21 representa la eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL como agente único o en combinación con azacitidina en ratones modelo con xenoinjerto THP-1. Se muestran los tamaños de tumor de ratones xenoinjerto THP-1 tratados con las condiciones indicadas medidas en los días indicados.

Descripción detallada

40 El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones. Cualquier tema que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solo con fines informativos. Cualquier referencia en la descripción a los métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia.

Definiciones

45 El verbo "comprender" como se usa en esta descripción y en las reivindicaciones y sus conjugaciones se usa en su sentido no limitativo para significar que los elementos que siguen a la palabra están incluidos, pero los elementos no mencionados específicamente no están excluidos

50 El término "un" o "una" se refiere a uno o más de esa entidad; por ejemplo, "un gen" se refiere a uno o más genes o al menos un gen. Como tal, los términos "un" (o "una"), "uno o más" y "al menos uno" se usan indistintamente en este documento. Además, la referencia a "un elemento" por el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que haya más de uno de los elementos presentes, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo uno de los elementos.

La divulgación proporciona secuencias de polinucleótidos aisladas, quiméricas, recombinantes o sintéticas. Como se usa en este documento, los términos "polinucleótido", "secuencia de polinucleótidos", "secuencia de ácido nucleico", "fragmento de ácido nucleico" y "fragmento de ácido nucleico aislado" se usan indistintamente en este documento y abarcan ADN, ARN, ADNc, ya sea monocatenario o bicatenario, así como modificaciones químicas de los mismos.

Estos términos abarcan secuencias de nucleótidos. Un polinucleótido puede ser un polímero de ARN o ADN que es monocatenario o bicatenario, que opcionalmente contiene bases de nucleótidos sintéticas, no naturales o alteradas. Un polinucleótido en forma de un polímero de ADN puede estar compuesto por uno o más segmentos de ADNc, ADN genómico, ADN sintético o mezclas de los mismos. Los nucleótidos (que generalmente se encuentran en su forma 5'-monofosfato) se mencionan con una designación de letra única como sigue: "A" para adenilato o desoxiadenilato (para ARN o ADN, respectivamente), "C" para citidilato o desoxicitidilato, "G" para guanilato o desoxiguanilato, "U" para uridilato, "T" para desoxitimidilato, "R" para purinas (A o G), "Y" para pirimidinas (C o T), "K" para G o T, "H" para A o C o T, "I" para inosina y "N" para cualquier nucleótido. En algunas realizaciones, las secuencias de polinucleótidos aisladas, quiméricas, recombinantes o sintéticas se derivan de marcadores genéticos de la presente invención.

La divulgación también proporciona proteínas o polipéptidos. En algunas realizaciones, las proteínas o polipéptidos son aislados, purificados, quiméricos, recombinantes o sintéticos. Como se usa en este documento, el término "polipéptido" o "proteína" se refiere a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados y puede ser interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácidos que se ha modificado naturalmente o por intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación, tal como la conjugación con un componente de etiquetado. También se incluyen, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluidos, por ejemplo, aminoácidos no naturales, eic), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Los polipéptidos se pueden presentar como cadenas individuales o cadenas asociadas. Los polipéptidos de la divulgación pueden tomar diversas formas (por ejemplo, nativas, fusiones, glicosiladas, no glicosiladas, lipidadas, no lipidadas, fosforiladas, no fosforiladas, miristoiladas, no miristoiladas, monoméricas, multiméricas, particuladas, desnaturalizadas). En algunas realizaciones, las secuencias de las proteínas o polipéptidos se derivan de marcadores genéticos de la presente divulgación.

Las abreviaturas de aminoácidos de una letra usadas en este documento tienen su significado estándar en la técnica, y todas las secuencias de péptidos descritas en este documento están escritas según la convención, con el extremo N-terminal a la izquierda y el extremo C-terminal a la derecha.

Como se usa en este documento, el término "componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4" se refiere a CDX2, KLF4 u otros genes, productos génicos (incluyendo ARN y proteínas) u otras moléculas biológicas que pueden modular la actividad de CDX2 y/o KLF4, directa o indirectamente, o genes, productos génicos u otras moléculas biológicas que pueden ser moduladas por CDX2 y/o KLF4, directa o indirectamente. La modulación puede ya sea aumentar o disminuir el nivel de actividad de un gen dado. Tales componentes incluyen CDX2, KLF4, KDM5B, miR-2909, p53, p21, caspasa-3, Anexina V, BAX, BCL2, BCL3, BMP, Wnt, HNF4α, Fgf, Hox, SP1, MYC, CCND1, AATF, y los descritos en Scholl et al. ("The homeobox gene CDX2 is aberrantly expressed in most cases of acute myeloid leukemia and promotes leukemogenesis", J. Clin. Invest. 117:1037-1048 (2007).), Yoon et al. (Krüppel-like Factor 4 Mediates p53-dependent G1/S Cell Cycle Arrest in Response to DNA Damage, Vol. 278, No. 4, Issue of January 24, pp. 2101-2105, 2003), Faber et al. (CDX2-driven leukemogenesis involves KLF4 repression and deregulated PPARγ signaling, J Clin Invest. doi:10.1172/JCI64745.), Rouhi et al. ("Deregulation of the CDX2-KLF4 axis in acute myeloid leukemia and colon cancer", Oncotarget. 2013 Feb;4(2):174-175.), Lengerke et al. ("BMP and Wnt specify hematopoietic fate by activation of the Cdx-Hox pathway", Cell Stem Cell. 2008 Jan 10;2(1):72-82.), Saandi et al. ("Regulation of the tumor suppressor homeogene Cdx2 by HNF4α in intestinal cancer", Oncogene. 2013 Aug 8;32(32):3782-8.), Malik et al., (miR-2909-mediated regulation of KLF4: a novel molecular mechanism for differentiating between B-cell and T-cell pediatric acute lymphoblastic leukemias. Mol Cancer. 13:175, 2014), y Rowland et al. ("KLF4, p21 and context-dependent opposing forces in cancer", Nat Rev Cancer. 2006 Jan;6(1):11-23). KLF4 regula negativamente (o suprime) la actividad de SP1, MYC, BCL3, CCND1, y AATF, directa o indirectamente, mientras que regula positivamente la actividad de p21. Además, KLF4 regula negativamente la actividad de p53 en algunos tipos de cáncer (por ejemplo, cáncer de mama, según lo descrito por Rowland et al., The KLF4 tumour suppressor is a transcriptional repressor of p53 that acts as a context-dependent oncogene. Nat Cell Biol. 2005. 7:1074-82), pero regula positivamente la actividad de p53 en algunos otros tipos de cáncer (por ejemplo, cáncer de colon y mieloma múltiple, según lo descrito por Ghaleb et al. (Krüppel-like factor 4 exhibits antiapoptotic activity following gamma-radiation-induced DNA damage. Oncogene. 2007. 26:2365-73), y Schoenhals et al. (Krüppel-like factor 4 blocks tumor cell proliferation and promotes drug resistance in multiple myeloma. Haematologica. 2013. 98:1442-9)). Muchos de los genes regulados por KLF4 se denominan "genes del destino celular". Una ilustración de algunos posibles efectos de la expresión o actividad silenciada del gen KLF4 en algunos de los genes modulados por KLF4 se puede encontrar en la figura 13. Algunos otros componentes en la vía de señalización CDX2-KLF4 pueden modular la expresión de KLF4. Ejemplos de tales componentes incluyen CDX2, KDM5B (una desmetilasa) y un miARN "miR-2909". Una ilustración de algunos posibles mecanismos de cómo estos moduladores de KLF4 pueden afectar la expresión o actividad del gen KLF4 en varios tipos de cáncer se puede encontrar en la figura 13 y la figura 14. Un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4 se puede usar

como un biomarcador según los métodos descritos en este documento para tratar cánceres, especialmente para tratar cánceres por un agente anticancerígeno de la presente invención, tal como LOR-253/APTO- 253.

Como se usa en este documento, el término "modular la vía de señalización de CDX2-KLF4" se refiere al procedimiento en el que uno o más componentes en la vía de señalización de CDX2-KLF4 es modulada por un agente o un evento (que incluye una mutación). En algunas realizaciones, tal modulación conduce a una actividad aumentada, disminuida, normalizada y/o estabilizada de uno o más componentes en la vía de señalización de CDX2-KLF4.

El término alquilo inferior se refiere a alquilo (C₁-C₆). Un alquilo inferior incluye metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, pentilo, 3-pentilo, hexilo, cicloalquilo (C₃-C₆) (por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo), cicloalquilo (C₃-C₆) alquilo (C₃-C₆) (por ejemplo, ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, 2-ciclopropiletilo, 2-ciclobutiletilo, 2-ciclopentiletilo o 2-ciclohexiletilo), alcoxi (C₁-C₆) (por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi, pentoxi, 3-pentoxi o hexiloxi) alqueno (C₂-C₆) (por ejemplo, vinilo, alilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 4-pentenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 4-hexenilo o 5-hexenilo), alquino (C₂-C₆) (por ejemplo, etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 3-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-pentinilo, 4-pentinilo, 1-hexinilo, 2-hexinilo, 3-hexinilo, 4-hexinilo o 5-hexinilo), alcanilo (C₁-C₆) (por ejemplo, acetilo, propanoilo o butanoilo), haloalquilo (C₁-C₆) (por ejemplo, yodometilo, bromo metilo, clorometilo, trifluorometilo, 2-cloroetilo, 2-fluoroetilo, 2,2,2-trifluoroetilo o pentafluoroetilo), hidroxialquilo (C₁-C₆) (por ejemplo, hidroximetilo, 1-hidroxietilo, 2-hidroxietilo, 1-hidroxipropilo, 2-hidroxipropilo, 3-hidroxipropilo, 1-hidroxibutilo, 4-hidroxibutilo, 1-hidroxipentilo, 5-hidroxipentilo, 1-hidroxihexilo o 6-hidroxihexilo), alcoxycarbonilo (C₁-C₆) (por ejemplo, metoxycarbonilo, etoxycarbonilo, propoxycarbonilo, isopropoxycarbonilo, butoxycarbonilo, pentoxycarbonilo o hexiloxycarbonilo), alquiltio (C₁-C₆) (por ejemplo, metiltio, etiltio, propiltio, isopropiltio, butiltio, isobutiltio, pentiltio, o hexiltio), y/o alcanilo (C₂-C₆) (por ejemplo, acetoxi, propanoilo, butanoilo, isobutanoilo, pentanoilo o hexanoilo).

Un compuesto descrito en este documento o su función derivada se puede usar según la presente invención. El término "derivado" como se usa en este documento incluye derivados, análogos, profármacos y precursores no naturales de un compuesto dado.

Como se usa en este documento, el término "eficacia del tratamiento" y variantes del mismo generalmente se indican mediante el alivio de uno o más signos o síntomas asociados con la enfermedad y un experto en el arte puede determinarlo fácilmente. La "eficacia del tratamiento" también puede referirse a la prevención o mejora de los signos y síntomas de toxicidades por lo general asociadas con tratamientos estándar o no estándar de una enfermedad. La determinación de la eficacia del tratamiento suele ser indicación y enfermedad específica y puede incluir cualquier método conocido o disponible en la técnica para determinar que un tratamiento está proporcionando un efecto beneficioso a un sujeto. Por ejemplo, la evidencia de la eficacia del tratamiento puede incluir mejoras generales en la salud general del sujeto, tales como la mejora de la calidad de vida del paciente, el aumento de la tasa de supervivencia prevista del sujeto, la disminución de la depresión, la disminución de la gravedad y/o frecuencia de uno o más síntomas resultantes de la enfermedad, disminuyendo la extensión de la enfermedad, estabilizando la enfermedad (por ejemplo, previniendo o retrasando el empeoramiento de la enfermedad), retrasando o ralentizando la progresión de la enfermedad o mejorando el estado de la enfermedad. En algunas realizaciones de la invención, la eficacia del tratamiento es la eficacia clínica o estadísticamente significativa.

Los términos "tratar" y "tratamiento" como se usan en este documento se refieren a un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados que incluyen resultados clínicos, y pueden incluir incluso cambios mínimos o mejoras en uno o más marcadores medibles de la enfermedad o afección que se está tratando. Un tratamiento generalmente es efectivo para reducir al menos un síntoma de una afección, enfermedad, trastorno, lesión o daño. Los marcadores de ejemplo de mejora clínica serán evidentes para los expertos en el arte. Los ejemplos incluyen uno o más de los siguientes: disminución de la gravedad y/o frecuencia de uno o más síntomas resultantes de la enfermedad, disminución de la extensión de la enfermedad, estabilización de la enfermedad (por ejemplo, prevención o retraso del empeoramiento de la enfermedad), retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad, mejora del estado de la enfermedad, disminución de la dosis de uno o más medicamentos necesarios para tratar la enfermedad y/o aumento de la calidad de vida.

La "profilaxis", el "tratamiento profiláctico" o el "tratamiento preventivo" se refiere a prevenir o reducir la aparición o gravedad de uno o más síntomas y/o su causa subyacente, por ejemplo, la prevención de una enfermedad o afección en un sujeto susceptible de desarrollar una enfermedad o afección (por ejemplo, con mayor riesgo, como resultado de una predisposición genética, factores ambientales, enfermedades o trastornos predisponentes, o similares).

El término "trastorno" o "enfermedad" usado indistintamente en este documento, se refiere a cualquier alteración en el estado del cuerpo o uno de sus órganos y/o tejidos, interrumpiendo o perturbando el desempeño de la función del órgano y/o la función del tejido (por ejemplo, causa disfunción orgánica) y/o causa un síntoma tal como malestar, disfunción, angustia o incluso la muerte de un sujeto afectado por la enfermedad.

Por "farmacéuticamente aceptable" se entiende un material que no es biológicamente o de otra manera indeseable, esto es, el material se puede incorporar en una composición farmacéutica administrada a un paciente sin causar ningún efecto biológico indeseable significativo o interactuar de manera perjudicial con cualquiera de los otros componentes de la composición en la que está contenido. Cuando el término "farmacéuticamente aceptable" se usa para referirse a un portador o excipiente farmacéutico, se da a entender que el portador o el excipiente ha cumplido con los estándares requeridos de pruebas toxicológicas y de fabricación o que está incluido en la Guía de ingredientes inactivos preparada por the U.S. Food and Drug administration.

El término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de uno o más compuestos que proporciona un resultado de tratamiento deseado. Una cantidad eficaz puede estar comprendida dentro de una o más dosis, esto es, se puede requerir una dosis única o dosis múltiples para lograr el punto final del tratamiento deseado.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" como se usa en este documento, se refiere al nivel o cantidad de uno o más agentes necesarios para tratar una afección, o reducir o prevenir lesiones o daños, opcionalmente sin causar efectos secundarios negativos o adversos significativos.

Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un agente suficiente para prevenir o reducir la gravedad de una enfermedad o afección futura cuando se administra a un sujeto que es susceptible y/o que puede desarrollar una enfermedad o afección.

El término "sujeto" y las variantes del mismo, como se usa en este documento, incluye cualquier sujeto que tiene, se sospecha que tiene o está en riesgo de tener una enfermedad o afección. Los sujetos apropiados (o pacientes) incluyen mamíferos, tales como animales de laboratorio (por ejemplo, ratón, rata, conejo, cobaya), animales de granja y animales domésticos o mascotas (por ejemplo, gato, perro). Se incluyen primates no humanos y, preferiblemente, pacientes humanos. Un sujeto "en riesgo" puede o no tener una enfermedad detectable, y puede o no haber mostrado una enfermedad detectable antes de los métodos de diagnóstico o tratamiento descritos en este documento. "En riesgo" indica que un sujeto tiene uno o más de los denominados factores de riesgo, que son parámetros medibles que se correlacionan con el desarrollo de una afección descrita en este documento, que se describen en este documento. Un sujeto que tiene uno o más de estos factores de riesgo tiene una mayor probabilidad de desarrollar una afección descrita en este documento que un sujeto sin estos factores de riesgo. Un ejemplo de dicho factor de riesgo es un aumento o disminución en un biomarcador de la presente invención en comparación con una muestra clínicamente normal.

En ciertas realizaciones, cuando se mide el nivel de actividad de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4 del tratamiento, una cantidad o nivel "aumentado" o "disminuido" puede incluir una cantidad "estadísticamente significativa". En algunas realizaciones, la administración de un agente anticancerígeno tal como LOR-253 proporciona un efecto terapéutico "estadísticamente significativo" o eficacia clínica para tratar el cáncer. En algunas realizaciones, tal efecto terapéutico estadísticamente significativo o eficacia clínica incluye una proliferación de células cancerosas más lenta o un crecimiento tumoral causado por el agente anticancerígeno en comparación con un vehículo de control. Un resultado por lo general se conoce como estadísticamente significativo si es poco probable que haya ocurrido por casualidad. El nivel de significación de una prueba o resultado se relaciona tradicionalmente con la cantidad de evidencia requerida para aceptar que es improbable que un evento haya surgido por casualidad. En ciertos casos, la significación estadística puede definirse como la probabilidad de tomar la decisión de rechazar la hipótesis nula cuando la hipótesis nula es realmente verdadera (una decisión conocida como error de tipo I o "determinación de falso positivo"). Esta decisión a menudo se toma usando el valor p: si el valor p es menor que el nivel de significancia, entonces se rechaza la hipótesis nula. Cuanto más pequeño es el valor p, más significativo es el resultado. Los factores de Bayes también se pueden usar para determinar la significación estadística (véase, por ejemplo, Goodman S., Ann Intern Med. 130:1005-13, 1999). En algunas realizaciones, una cantidad o nivel "incrementado" o "disminuido" es aproximadamente 1.1x, 1.2x, 1.3x, 1.4x, 1.5x, 2x, 2.5x, 3x, 3.5x, 4x, 4.5x, 5x, 6x, 7x, 8x, 9x, 10x, 15x, 20x, 25x, 30x, 40x, o 50x más o menos la cantidad de un estándar predeterminado, o la cantidad de un punto de tiempo determinado en relación con un punto de tiempo anterior o posterior.

Según algunas realizaciones de la presente invención, la administración de agentes anticancerígenos tales como LOR-253 proporciona un efecto terapéutico estadísticamente significativo. En una realización, el efecto terapéutico estadísticamente significativo se determina en base a uno o más estándares o criterios proporcionados por una o más agencias reguladoras en los Estados Unidos, por ejemplo, la FDA u otros países. En otras realizaciones, el efecto terapéutico estadísticamente significativo se determina en base a los resultados obtenidos de la configuración y/o procedimiento del ensayo clínico aprobado por la agencia reguladora.

En algunas realizaciones, el efecto terapéutico estadísticamente significativo se determina en base a una población de pacientes de al menos 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 o 2000. En algunas realizaciones, el efecto terapéutico estadísticamente significativo es determinado en base a los datos obtenidos de la configuración de ensayos clínicos aleatorizados y doble ciego. En algunas realizaciones, el efecto terapéutico estadísticamente significativo se determina en base a datos con un valor p menor o igual que aproximadamente 0.05, 0.04, 0.03, 0.02 o 0.01. En algunas realizaciones, el efecto terapéutico estadísticamente significativo se determina en base a datos con un intervalo de confianza mayor o igual al 95%, 96%, 97%, 98% o 99%. En algunas realizaciones, el efecto

terapéutico estadísticamente significativo se determina tras la aprobación del ensayo clínico de fase III, por ejemplo, por la FDA en los Estados Unidos.

En algunas realizaciones, el efecto terapéutico estadísticamente significativo se determina mediante un ensayo clínico aleatorizado doble ciego de una población de pacientes de al menos 300 o 350, tratados con agentes anticancerígenos tales como LOR-253 en combinación con atención estándar. En alguna realización, el efecto terapéutico estadísticamente significativo se determina mediante un ensayo clínico aleatorizado de una población de pacientes de al menos 300 o 350 y usando una tasa de mortalidad de 28 días, tasa de mortalidad hospitalaria, tasa de mortalidad de la UCI, duración en la UCI, días libres de la UCI, puntuación de evaluación de falla orgánica secuencial (SOFA), riesgo relativo de muerte, frecuencia de UCI, duración de la ventilación, frecuencia de ventilación, días libres de ventilación o cualquier combinación de los mismos o cualquier otro criterio comúnmente aceptado para la evaluación de sepsis.

En general, el análisis estadístico puede incluir cualquier método apropiado permitido por una agencia reguladora, por ejemplo, la FDA en los EE. UU. O China o cualquier otro país. En algunas realizaciones, el análisis estadístico incluye análisis no estratificado, análisis logrank, por ejemplo, de Kaplan-Meier, Jacobson-Truax, Gulliken-Lord-Novick, Edwards-Nunnally, Hageman-Arrindel y Hierarchical Linear Modeling (HLM) y análisis de regresión Cox.

Como se usa en este documento, la frase "por día" describe una cantidad administrada en los días en que se administra un agente. La frase "por día" no indica que se administra una cantidad todos los días.

La frase "sal (es) farmacéuticamente aceptable (s)", como se usa en este documento, a menos que se indique lo contrario, incluye sales de grupos ácidos o básicos que pueden estar presentes en un compuesto. Los compuestos que son de naturaleza básica son capaces de formar una amplia variedad de sales con diversos ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ácidos que se pueden usar para preparar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de tales compuestos básicos son aquellos que forman sales de adición de ácido no tóxicas, esto es, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, tales como sales de acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bistosilato, bitartrato, borato, bromuro, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, clavulanato, citrato, diclorhidrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, etilsuccinato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, yoduro, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilsulfato, mucate, napsilato, nitrato, oleato, oxalato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, tanato, tartrato, teoclatato, tosilato, trietiododo y valerato.

El término "profármaco", como se usa en este documento, a menos que se indique lo contrario, significa compuestos que son precursores de fármacos, que después de la administración, liberan el fármaco *in vivo* a través de algún procedimiento químico o fisiológico (por ejemplo, un profármaco al ser llevado al pH fisiológico se convierte a la forma de fármaco deseada).

"Programa de dosificación continua", como se usa en este documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere a un programa de dosificación en el que un compuesto de la presente invención, o una forma de dosificación que comprende dicho compuesto, se administra durante un período de tratamiento sin un período de descanso. A lo largo del período de tratamiento de un programa de dosificación continua, el compuesto, o una forma de dosificación que comprende el compuesto, se puede administrar, por ejemplo, diariamente, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día o cada quinto día. En un día en que se administra el compuesto, o una forma de dosificación que comprende el compuesto, se puede administrar en una dosis única o en dosis múltiples durante todo el día.

"Programa de dosificación intermitente", como se usa en este documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere a un programa de dosificación que comprende un período de tratamiento y un período de descanso. A lo largo del período de tratamiento de un programa de dosificación intermitente, se puede administrar un compuesto de la presente invención, o una forma de dosificación que comprende dicho compuesto, por ejemplo, diariamente, o cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día o cada quinto día. En un día en que se administra el compuesto o una forma de dosificación que comprende el compuesto, se puede administrar en una dosis única o en dosis múltiples durante todo el día. Durante el período de descanso, no se administra un compuesto o una forma de dosificación que comprende el compuesto. En algunas realizaciones, el período de descanso dura al menos un día, al menos dos días, al menos tres días, al menos cuatro días, al menos cinco días, al menos seis días, al menos una semana, al menos 1.5 semanas, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 4 semanas, al menos un mes, al menos dos meses, al menos tres meses, al menos cuatro meses, al menos cinco meses, al menos medio año, al menos un año, al menos dos años o más. En algunos regímenes de dosificación intermitente, el período de tratamiento es por lo general de aproximadamente 1 día a 30 días, tal como aproximadamente 10 días a 30 días, por ejemplo, aproximadamente 2, 3 o 4 semanas, y el período de descanso es por lo general de 1 a 30 días., como 3 a 15 días, por ejemplo, 1 o 2 semanas. Se contempla la combinación de cualquier período de tratamiento de 10 a 30 días con cualquier período de descanso de 3 a 15 días. Los regímenes de dosificación intermitente pueden expresarse como período de tratamiento en semanas/período de descanso en semanas. Por ejemplo, un programa de dosificación intermitente 4/1 se refiere a un programa de dosificación intermitente en el que el período de tratamiento es de cuatro semanas y el período de descanso es de una semana. Un programa de dosificación intermitente 4/2 se refiere a un programa de dosificación intermitente en el que el período de tratamiento es de

cuatro semanas y el período de descanso es de dos semanas. De manera similar, un programa de dosificación intermitente 3/1 se refiere a un programa de dosificación intermitente en el que el período de tratamiento es de tres semanas y el período de descanso es de una semana.

5 El sujeto humano tratado por el agente anticancerígeno de la presente invención puede mostrar respuesta completa o respuesta parcial. La respuesta completa (CR), como se usa en este documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere a la desaparición de todos los síntomas medibles y no medibles y a la no aparición de síntomas nuevos en un paciente bajo el tratamiento. La respuesta parcial (PR), como se usa en este documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere a que al menos un síntoma medible y no medible se reduce significativamente, o sin la aparición de un síntoma nuevo en un paciente bajo tratamiento.

10 Debería apreciarse además que los regímenes de dosificación pueden ser ajustados por un experto en el arte para acomodar más convenientemente la coordinación de los regímenes de dosificación y agentes terapéuticos adicionales, si tales ajustes son terapéuticamente aceptables.

15 Como se usa en este documento, "C_{max}" se refiere a la concentración máxima en plasma; t_{max} se refiere al momento en que ocurre la C_{max} después de administrar la dosis; AUC se refiere al área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo desde el tiempo cero hasta el infinito; t_{1/2} se refiere a la vida media de eliminación plasmática; % CV se refiere al coeficiente de variación porcentual; C_(mínima a 24 h) se refiere a la concentración en plasma mínima a las 24 horas después de la dosificación; y QD indica una vez al día.

Cánceres

20 Los cánceres que se pueden tratar de acuerdo con una realización de la presente divulgación incluyen, de este modo, leucemias; adenocarcinomas y carcinomas, incluidos los carcinomas de células escamosas. Los carcinomas también se denominan frecuentemente "tumores sólidos", como se describió anteriormente, y los ejemplos de tumores sólidos comunes que se pueden tratar de acuerdo con la presente divulgación incluyen cáncer anal, cáncer de vejiga, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer duodenal, cáncer gástrico (estómago), cáncer de pulmón (células no pequeñas), cáncer de esófago, cáncer de próstata, cáncer de recto y cáncer de intestino delgado. De acuerdo con lo anterior, una realización de la presente divulgación proporciona el uso de un compuesto de fórmula I en el tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo de leucemia, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón (no de células pequeñas), cáncer de próstata y un cáncer del tracto GI, en el que los cánceres del tracto GI incluyen cáncer anal, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer duodenal, cáncer gástrico (estómago), cáncer de esófago, cáncer rectal y cáncer de intestino delgado. Como se usa en este documento, "C_{max}" se refiere a la concentración en plasma máxima; t_{max} se refiere al momento en que ocurre la C_{max} después de administrar la dosis; AUC se refiere al área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo desde el tiempo cero hasta el infinito; t_{1/2} se refiere a la vida media de eliminación plasmática; % CV se refiere al coeficiente de variación porcentual; Q_(mínima 24 h) se refiere a la concentración en plasma mínima a las 24 horas después de la dosificación; y QD indica una vez al día.

35 El término "leucemia" o "leucemia" se refiere en general a enfermedades malignas progresivas de los órganos formadores de sangre. La leucemia se caracteriza por lo general por una proliferación distorsionada y el desarrollo de leucocitos y sus precursores en la sangre y la médula ósea, pero también puede referirse a enfermedades malignas de otras células sanguíneas tales como la eritroleucemia, que afecta a los glóbulos rojos inmaduros. La leucemia generalmente se clasifica clínicamente en función de (1) la duración y el carácter de la enfermedad aguda o crónica; (2) el tipo de célula mielóide (mielógena) implicada, linfóide (linfógena) o monocítica, y (3) el aumento o no aumento en el número de células anormales en la sangre-leucémica o aleucémica (subleucémica). La leucemia incluye, por ejemplo, leucemia aguda, leucemia crónica, leucemia adulta, leucemia pediátrica/infantil, leucemia linfocítica, leucemia mielóide, leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia no linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, leucemia granulocítica crónica, leucemia promielocítica aguda, leucemia mielógena crónica (CML), leucemia de células T, leucemia de células B, leucemia de células T adultas, ALL de células T pediátricas, ALL de células B pediátricas, leucemia aleucémica, leucemia aleucocitemica, leucemia basofílica, leucemia de células blásticas, leucemia bovina, leucemia mielocítica crónica, leucemia cutis, leucemia embrionaria, leucemia eosinofílica, leucemia de Gross, leucemia de células pilosas, leucemia hemoblástica, leucemia hemocitoblástica, leucemia histiocítica, leucemia de células madre, leucemia monocítica aguda, leucemia leucopénica, leucemia linfática, leucemia linfoblástica, leucemia linfocítica, leucemia linfógena, leucemia de células linfomes, leucemia de mastocitos, leucemia linfóide, leucemia de células linfomes, leucemia de mastocitos, leucemia megacariocítica, leucemia micromieloblástica, leucemia monocítica, leucemia mieloblástica, leucemia mielocítica, leucemia granulocítica mielóide, leucemia mielomonocítica, leucemia de Naegeli, leucemia de células plasmáticas, leucemia plasmocítica, leucemia promielocítica, leucemia de células de Rieder, leucemia de Schilling, leucemia de células madre, leucemia subleucémica y leucemia celular indiferenciada.

55 El término "carcinoma" se refiere a un nuevo crecimiento maligno compuesto por células epiteliales que tienden a infiltrarse en los tejidos circundantes y dar lugar a metástasis. El término "carcinoma" también abarca adenocarcinomas. Los adenocarcinomas son carcinomas que se originan en células que producen órganos que tienen propiedades glandulares (secretoras) o que se originan en células que recubren vísceras huecas, tales como el tracto gastrointestinal o el epitelio bronquial, e incluyen adenocarcinomas de pulmón y próstata.

Los métodos de la presente divulgación se pueden aplicar en el tratamiento de cánceres en etapa temprana que incluyen neoplasias tempranas que pueden ser pequeñas, de crecimiento lento, localizadas y/o no agresivas, por ejemplo, con la intención de curar la enfermedad o causar la regresión del cáncer, así como en el tratamiento de la etapa intermedia y en el tratamiento de los cánceres en etapa tardía, incluidas las neoplasias avanzadas y/o metastásicas y/o agresivas, por ejemplo, para retrasar la progresión de la enfermedad, reducir la metástasis o aumentar la supervivencia del paciente. De manera similar, las combinaciones se pueden usar en el tratamiento de cánceres de bajo grado, cánceres de grado intermedio y/o cánceres de alto grado.

Los métodos de la presente divulgación también se pueden usar en el tratamiento de cánceres indolentes, cánceres recurrentes que incluyen cánceres localmente recurrentes, distalmente recurrentes y/o refractarios (esto es, cánceres que no han respondido al tratamiento), cánceres metastásicos, cánceres localmente avanzados y cánceres agresivos. De este modo, un cáncer "avanzado" incluye cáncer localmente avanzado y cáncer metastásico y se refiere a una enfermedad manifiesta en un paciente, en el que dicha enfermedad manifiesta no es curable mediante modalidades locales de tratamiento, tales como cirugía o radioterapia. El término "cáncer metastásico" se refiere al cáncer que se ha diseminado de una parte del cuerpo a otra. Los cánceres avanzados también pueden ser irresecables, es decir, se han diseminado al tejido circundante y no se pueden extirpar quirúrgicamente.

Los métodos de la presente divulgación también se pueden usar en el tratamiento de cánceres resistentes a fármacos, que incluyen tumores resistentes a múltiples fármacos. Como se sabe en la técnica, la resistencia de las células cancerosas a la quimioterapia es uno de los problemas centrales en el tratamiento del cáncer.

Un experto en el arte apreciará que muchas de estas categorías pueden solaparse, por ejemplo, los cánceres agresivos también son por lo general metastásicos. "Cáncer agresivo", como se usa en este documento, se refiere a un cáncer que crece rápidamente. Un experto en el arte apreciará que para algunos tipos de cáncer, tales como el cáncer de mama o el cáncer de próstata, el término "cáncer agresivo" se referirá a un cáncer avanzado que ha recaído en aproximadamente los dos tercios anteriores del espectro de tiempos de recaída para un determinado cáncer, mientras que para otros tipos de cáncer, casi todos los casos presentan cánceres de rápido crecimiento que se consideran agresivos. De este modo, el término puede cubrir una subsección de cierto tipo de cáncer o puede abarcar todos los demás tipos de cáncer.

En algunas realizaciones, el cáncer es leucemia/linfoma. En algunas realizaciones, el cáncer es leucemia mielógena aguda (AML). En algunas realizaciones, el cáncer es linfoma, cáncer gástrico, mieloma múltiple, síndromes mielodisplásicos o combinaciones de los mismos. En algunas otras realizaciones, el cáncer es leucemia de células T, por ejemplo, leucemia de células T adultas asociada con la metilación epigenética del gen KLF4. En algunas otras realizaciones, el cáncer es ALL, por ejemplo, ALL pediátrica. En algunas otras realizaciones, el cáncer es la ALL de células T pediátrica asociada con una o más mutaciones en el gen o proteína KLF4. En algunas otras realizaciones, el cáncer es ALL de células B pediátricas asociado con miRNA-2902 elevado. En algunas otras realizaciones, el cáncer es AML, ALL o MDS, por ejemplo, MDS de alto riesgo, todo lo cual está asociado con una actividad CDX2 superior a la normal. En algunas otras realizaciones, el cáncer es Hodgkins, Burkitts o linfomas de células B, todos los cuales están asociados con la metilación del gen KLF4.

La leucemia mieloide aguda (AML): también conocida como leucemia mielógena aguda o leucemia no linfocítica aguda (ANLL), es un cáncer de la línea de células sanguíneas mieloides, 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. Los síntomas de la AML son causados por el reemplazo de la médula ósea normal con células leucémicas, lo que provoca una caída en los glóbulos rojos, las plaquetas y los glóbulos blancos normales. Estos síntomas incluyen fatiga, dificultad para respirar, hematomas y sangrado fáciles y un mayor riesgo de infección. Se han identificado varios factores de riesgo y anomalías cromosómicas, pero la causa específica no está clara. Como una leucemia aguda, la AML progresa rápidamente y por lo general es mortal en semanas o meses si no se trata. Varios factores de riesgo para desarrollar AML incluyen trastornos sanguíneos preleucémicos, tales como el síndrome mielodisplásico o la enfermedad mieloproliferativa; exposición a quimioterapia contra el cáncer; radiación, tales como altas cantidades de exposición a radiación ionizante; y razones genéticas, como las descritas en Taylor et al. ("The hereditary basis of human leukemia". In Henderson ES, Lister TA, Greaves MF. Leukemia (6th ed.). Philadelphia: WB Saunders. p. 210. ISBN 0-7216-5381-2), Horwitz et al. ("Anticipation in familial leukemia". Am. J. Hum. Genet. 59 (5): 990-8. PMC 1914843. PMID 8900225), Crittenden ("An interpretation of familial aggregation based on multiple genetic and environmental factors". Ann. N. Y. Acad. Sci. 91 (3): 769-80), y Horwitz ("The genetics of familial leukemia". Leukemia 11 (8): 1347-59). La clasificación de The World Health Organization (WHO) de leucemia mieloide aguda intenta ser más clínicamente útil y producir información pronóstica más significativa que los criterios FAB. Cada una de las categorías de la WHO contiene numerosas subcategorías descriptivas de interés para el hematopatólogo y el oncólogo; sin embargo, la mayoría de la información clínicamente significativa en el esquema de la WHO se comunica a través de la categorización en uno de los subtipos enumerados a continuación:

Nombre	Descripción	ICD-O (Clasificación internacional de enfermedades para oncología)

Leucemia mieloide aguda con anomalías genéticas recurrentes	Incluye: • AML con translocaciones entre los cromosomas 8 y 21 [t (8; 21)] (ICD-O 9896/3); RUNX1/RUNX1T1 • AML con inversiones en el cromosoma 16 [inv (16)] (ICD-O 9871/3); CBFβ/MYH11 • APL con translocaciones entre los cromosomas 15 y 17 [t (15; 17)] (ICD-O 9866/3); RARA; PML • AML con translocaciones en los cromosomas 9 y 11 [t (9; 11)]; MLLT3-MLL Los pacientes con AML en esta categoría generalmente tienen una alta tasa de remisión y un mejor pronóstico en comparación con otros tipos de AML.	Múltiple
AML con displasia multilineal	Esta categoría incluye pacientes que han tenido un síndrome mielodisplásico previo (MDS) o enfermedad mieloproliferativa (MPD) que se transforma en AML. Esta categoría de AML ocurre con mayor frecuencia en pacientes de edad avanzada y, a menudo, tiene un peor pronóstico.	M9895/3
AML y MDS, relacionados con la terapia	Esta categoría incluye pacientes que han recibido quimioterapia y/o radiación previamente y que posteriormente desarrollan AML o MDS. Estas leucemias se pueden caracterizar por anomalías cromosómicas específicas y, a menudo, tienen un peor pronóstico.	M9920/3
AML no clasificada de otra manera	Incluye subtipos de AML que no entran en las categorías anteriores.	M9861/3

El sistema de clasificación francés-estadounidense-británico (FAB) divide la AML en ocho subtipos, M0 a M7, en función del tipo de célula a partir de la cual se desarrolló la leucemia y su grado de madurez. Aunque la clasificación de la WHO (véase arriba) puede ser más útil, el sistema FAB todavía se usa ampliamente.

Tipo	Nombre	Citogenética	Porcentaje de pacientes adultos con AML
M0	leucemia mieloblástica aguda, mínimamente diferenciada		5%
M1	leucemia mieloblástica aguda, sin maduración		15%
M2	Leucemia mieloblástica aguda, con maduración granulocítica	t(8;21)(q22; q22), t(6;9)	25%
M3	Leucemia promielocítica o leucemia promielocítica aguda (APL)	t (15; 17)	10%
M4	leucemia mielomonocítica aguda	inv(16) (p13q22), del (16q)	20%
M4eo	mielomonocítico junto con eosinofilia de médula ósea	inv(16), t(16; 16)	5%
M5	leucemia monoblástica aguda (M5a) o leucemia monocítica aguda (M5b)	del (11q), t(9; 11), t(11;19)	10%
M6	Leucemias eritroides agudas, incluyendo eritroleucemia (M6a) y leucemia eritroide pura muy rara (M6b)		5%
M7	leucemia megacarioblástica aguda	t (1; 22)	5%

5

Los métodos anteriores para tratar la AML se describen en Bishop J ("The treatment of adult acute myeloid leukemia". Semin Oncol 24 (1): 57-69. 1997), Weick et al. ("A randomized investigation of high-dose versus standard-

dose cytosine arabinoside with daunorubicin in patients with previously untreated acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study" (PDF). *Blood* 88 (8): 2841-51, 1996), Bishop et al. ("A randomized study of high-dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia" *Blood* 87 (5): 1710-7, 1996), Huang et al. ("Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia". *Blood* 72 (2): 567-72, 1988), Tallman et al. ("All-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia". *N. Engl. J. Med.* 337 (15): 1021-8, 1997), Fenaux et al. ("A randomized comparison of all transretinoic acid (ATRA) followed by chemotherapy and ATRA plus chemotherapy and the role of maintenance therapy in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. The European APL Group". *Blood* 94 (4): 1192-200, 1999), Estey E ("Treatment of acute myelogenous leukemia". *Oncology (Williston Park)* 16 (3): 343-52, 355-6; discussion 357, 362, 365-6, 2002), y Cassileth et al. ("Maintenance chemotherapy prolongs remission duration in adult acute nonlymphocytic leukemia". *J Clin Oncol* 6 (4): 583-7, 1988).

La leucemia linfocítica aguda (ALL): también conocida como leucemia linfoblástica aguda, es una leucemia aguda que se caracteriza por la proliferación y acumulación desregulada de linfocitos/linfoblastos leucémicos (glóbulos blancos inmaduros tales como progenitores tempranos de linfocitos B y T) en la médula ósea y diversos sitios extramedulares. La ALL es el tipo de cáncer más común en niños, y es un cáncer relativamente poco común en adultos. Los factores de riesgo para desarrollar ALL incluyen trastornos/mutaciones genéticas y diversas modificaciones epigenéticas, tales como las descritas por Iacobucci et al. ("Cytogenetic and molecular predictors of outcome in acute lymphocytic leukemia: recent developments", *Curr Hematol Malig Rep.* 2012 Jun;7(2): 133-43.) y Florean et al. ("Epigenomics of leukemia: from mechanisms to therapeutic applications". *Epigenomics.* 2011 Oct;3(5):581-609).

La leucemia mielógena crónica (CML): también conocida como leucemia mieloide crónica, es una leucemia crónica que se caracteriza por una proliferación desregulada/aumentada de diversas células sanguíneas, predominantemente células mieloides en sangre periférica y sus precursores en la médula ósea, lo que resulta en su acumulación en la sangre. Es menos frecuente que la leucemia linfocítica crónica (CLL) en adultos en el mundo occidental, y la edad media de aparición de CML es de 50-60 años. Los factores de riesgo para desarrollar CML también incluyen, entre otros, trastornos/mutaciones genéticas y diversas modificaciones epigenéticas, como las descritas por Florean et al. El curso de la enfermedad es trifásico, comenzando con una fase temprana, también conocida como enfermedad de fase crónica (CP). Entonces, las células madre de leucemia pueden adquirir defectos genéticos adicionales.

La leucemia de células T adultas (ATLL): también conocida como linfoma de células T adultas, es un trastorno linfoproliferativo poco común de células T CD4+ maduras que es causada por el virus linfotrófico T humano tipo 1 retrovirus (HTLV-1) como revisado por Qayyum et al. ("Adult T-cell leukemia/lymphoma". *Arch Pathol Lab Med.* 2014 Feb;138(2):282-6). Actualmente, alrededor de 20 millones de personas en todo el mundo son portadores de HTLV-1, y la mayoría de las personas infectadas residen en áreas endémicas tales como el sur de Japón, África, la cuenca del Caribe y América Latina. El estado de portador viral de por vida y la latencia prolongada (20-40 años) son comunes después de la infección por HTLV-1, por lo tanto, este tipo de leucemia/linfoma se encuentra casi exclusivamente en adultos y es extremadamente raro en niños. El riesgo de progresión a ATLL de por vida en un paciente con HTLV-1 positivo es 2.1% para mujeres y 6.6% para hombres. La edad media de inicio es de 60 años (intervalo, 20-80 años). La gran mayoría de los casos de ATLL ocurren en pacientes infectados durante los primeros años de vida, presumiblemente debido a una respuesta inmune menos eficiente en este grupo de edad. Además, la infección prolongada puede aumentar las posibilidades de acumular mutaciones posteriores y, en última instancia, la transformación maligna. Las principales vías de transmisión viral son la lactancia materna, la exposición a la sangre y las relaciones sexuales sin protección. La clasificación de la organización mundial de la salud de los tumores de tejidos hematopoyéticos y linfoides en 2008 subclasificó ATLL en 4 variantes distintas según la clasificación de Shimoyama: aguda (60%), linfomatosa (20%), crónica (15%) y latente (5%). No hay características absolutamente necesarias para cada variante, y se ve una superposición. La variante aguda se manifiesta como leucocitosis marcada con linfocitos atípicos y eosinofilia. Los síntomas incluyen hipercalcemia con o sin lesiones osteolíticas, disfunción renal y trastornos neuropsiquiátricos, nivel elevado de lactato deshidrogenasa, lesiones que aumentan el anillo nervioso central y complicaciones respiratorias secundarias. La variante linfomatosa es una enfermedad avanzada agresiva que se asemeja al subtipo de inicio agudo, y la linfadenopatía marcada sin leucemia es una característica destacada de esta variante. La variante crónica generalmente se presenta con erupción cutánea, leucocitosis con linfocitosis absoluta, linfadenopatía leve e hipercalcemia. La variante latente es asintomática y se caracteriza por un recuento normal de glóbulos blancos con menos del 5% de células linfoides atípicas circulantes y sin hipercalcemia u organomegalia asociada, aunque a menudo se produce afectación de la piel y los pulmones. La progresión de la variante latente a la variante aguda puede ocurrir.

Linfoma: el linfoma es un tipo de cáncer de sangre que ocurre cuando los linfocitos B o T, los glóbulos blancos que forman parte del sistema inmunitario y ayudan a proteger al cuerpo de infecciones y enfermedades, se dividen más rápido que las células normales o viven más tiempo de lo que se supone que deben hacer. Por lo general, el linfoma se presenta como un tumor sólido de células linfoides. La clasificación actual de la WHO, publicada en 2001 y actualizada en 2008, es la última clasificación de linfoma y se basa en los fundamentos establecidos en la "Revised European-American Lymphoma classification" (REAL):

A. Neoplasias de células B maduras:

- Leucemia linfocítica crónica/Linfoma linfocítico pequeño.
- Leucemia prolinfocítica de células B
- Linfoma linfoplasmacítico (tal como la macroglobulinemia de Waldenstrom)
- Linfoma esplénico de la zona marginal
- 5 • Neoplasias de células plasmáticas:
 - + Mieloma de células plasmáticas
 - + Plasmocitoma
 - + Enfermedades de deposición de inmunoglobulina monoclonal
 - + Enfermedades de la cadena pesada
- 10 • Linfoma de células B de la zona marginal extraganglionar, también llamado linfoma MALT
- Linfoma nodal de la zona marginal de células B (NMZL)
- Linfoma folicular
- Linfoma de células del manto.
- Linfoma difuso de células B grandes
- 15 • Linfoma mediastínico (tímico) de células B grandes
- Linfoma intravascular de células B grandes
- Linfoma de derrame primario
- Linfoma de Burkitt/leucemia
- B. Neoplasias de células T maduras y células asesinas naturales (NK)
- 20 • Leucemia prolinfocítica de células T
- Leucemia linfocítica granular de células T grandes
- Leucemia agresiva de células NK
- Leucemia/linfoma de células T adultas
- Linfoma extraganglionar de células NK/T, tipo nasal
- 25 • Linfoma de células T de tipo enteropatía
- Linfoma hepatoesplénico de células T
- Linfoma de células NK blásticas
- Micosis fungoide/síndrome de Sezary
- Trastornos linfoproliferativos de células T CD30 positivas primarias cutáneas
- 30 + Linfoma anaplásico cutáneo primario de células grandes
- + Papulosis linfomatoide
- Linfoma angioinmunoblástico de células T
- Linfoma periférico de células T, no especificado
- Linfoma anaplásico de células grandes.
- 35 C. Linfoma de Hodgkin
- Linfomas de Hodgkin clásicos:

+ Esclerosis nodular

+ Celularidad mixta

+ Rico en linfocitos

+ Linfocitos agotados o no agotados

- 5 • Linfoma de Hodgkin con predominio linfocítico nodular.

D. Trastornos linfoproliferativos asociados a la inmunodeficiencia.

• Asociado con un trastorno inmunitario primario.

• Asociado con el virus de inmunodeficiencia humana (HIV)

• Post-trasplante

- 10 • Asociado con la terapia con metotrexato.

• El linfoma primario del sistema nervioso central ocurre con mayor frecuencia en pacientes inmunocomprometidos, en particular aquellos con AIDS, pero también puede ocurrir en el inmunocompetente. Tiene un pronóstico desfavorable, particularmente en las personas con AIDS. El tratamiento puede consistir en corticosteroides, radioterapia y quimioterapia, a menudo con metotrexato.

- 15 A continuación se muestran los subtipos de linfoma con incidencia relativa, histopatología, inmunofenotipo, supervivencia general al año t (Robbins basic pathology (8th ed.). Philadelphia: Saunders/Elsevier. 2007. pp. Table 12-8.):

Tipo de linfoma	<u>Incidencia Relativa</u> ⁽¹³⁾	<u>Histopatología</u> ⁽¹³⁾	<u>Inmunofenotipo</u>	<u>Supervivencia general a 5 años</u>	Otros comentarios
<u>Leucemia/linfoma de células T precursoras</u>	40% de los linfomas en la infancia	Linfoblastos con contornos nucleares irregulares, cromatina condensada, pequeños nucleolos y escaso citoplasma sin gránulos	TdT, CD2, CD7		A menudo se presenta como una masa mediastínica debido a la participación del timo. Está altamente asociado con las mutaciones NOTCH1. Más común en varones <u>adolescentes</u> .
<u>Linfoma folicular</u>	40% de linfomas en adultos	Pequeñas células "escindidas" (centroцитos) mezcladas con células grandes activadas (centroblastos). Por lo general, patrón de crecimiento nodular ("foliular")	CD 10, superficie Ig	72-77%	Ocurre en adultos mayores. Generalmente implica ganglios linfáticos, médula ósea y bazo. Asociado con la <u>translocación t (14; 18)</u> que sobreexpresa Bcl-2. <u>Indolente</u>
<u>Linfoma difuso de células B grandes</u>	40 a 50% de los linfomas en adultos	Variable. La mayoría se parece a las células B de los grandes centros germinales. Patrón de crecimiento difuso	Expresión variable de CD10 y superficie Ig	60%	Ocurre en todas las edades, pero más comúnmente en adultos mayores. A menudo ocurre fuera de los ganglios linfáticos. Agresivo
<u>Linfoma de células del manto</u>	3 a 4% de linfomas en adultos	Linfocitos de tamaño pequeño a intermedio que crecen en patrón difuso	CD5	50% a 70%	Ocurre principalmente en varones adultos. Usualmente implica ganglios linfáticos, médula ósea, bazo y tracto GI. Asociado con la translocación t (11; 14) que sobreexpresa la <u>ciclina D1</u> . Moderadamente agresivo
<u>Leucemia/linfoma linfocítico crónico de células B</u>	3 a 4% de linfomas en adultos	Linfocitos pequeños en reposo mezclados con un número variable de células grandes activadas. Los ganglios linfáticos se borran difusamente	CD5, inmunoglobulina de superficie	50%	Ocurre en adultos mayores. Generalmente implica ganglios linfáticos, médula ósea y bazo. La mayoría de los pacientes tienen afectación de sangre periférica. <u>Indolente</u> .
<u>Linfoma MALT</u>	~5% de los linfomas en adultos	Tamaño celular variable y diferenciación. El 40% muestra diferenciación de células plasmáticas. La orientación de las células B al epitelio crea lesiones linfocitales	CD5, CD10, superficie Ig		Con frecuencia ocurre fuera de los ganglios linfáticos. Muy indolente. Puede curarse mediante escisión local
<u>Linfoma de Burkitt</u>	<1% de linfomas en los Estados Unidos	Células linfoides redondas de tamaño intermedio con varios nucleolos. Aspecto del cielo estrellado por difusión difusa con apoptosis intercalada	CD10, superficie Ig	50%	Endémico en África, esporádico en otros lugares. Más común en inmunocomprometidos y en niños. A menudo afectación visceral. Altamente agresivo

(continuación)

Tipo de linfoma	<u>Incidencia Relativa</u> ⁽¹³⁾	<u>Histopatología</u> ⁽¹³⁾	<u>Inmunofenotipo</u>	<u>Supervivencia general a 5 años</u>	Otros comentarios
<u>Micosis fungoide</u>	Neoplasia linfoide cutánea más común	Por lo general, pequeñas células linfoides con núcleos contorneados que a menudo se infiltran en la epidermis, creando <u>microabscesos de Pautrier</u> .	<u>CD4</u>	75%	Síntomas cutáneos localizados o más generalizados. Generalmente indolente. En una variante más agresiva, la enfermedad de Sézary, hay eritema cutáneo y afectación de la sangre periférica.
Tipo de linfoma	<u>Incidencia Relativa</u> ⁽¹³⁾	<u>Histopatología</u> ⁽¹³⁾	<u>Inmunofenotipo</u>	<u>Supervivencia general a 5 años</u>	Otros comentarios
<u>Linfoma periférico de células T: no especificado de otra manera</u>	Linfoma de células T más común	Variable. Por lo general, una mezcla de células linfoides pequeñas a grandes con contornos nucleares irregulares	<u>CD3</u>		Probablemente consiste en varios tipos de tumores raros. A menudo es diseminado y generalmente agresivo
<u>Forma de esclerosis nodular del linfoma de Hodgkin</u>	El tipo más común de linfoma de Hodgkin	Variantes de células de Reed-Sternberg e inflamación. Generalmente bandas escleróticas anchas que consisten en colágeno	<u>CD15, CD30</u>		Más común en adultos jóvenes. A menudo surge en el mediastino o los ganglios linfáticos cervicales.
<u>Subtipo de celularidad mixta del linfoma de Hodgkin</u>	Segunda forma más común de linfoma de Hodgkin	Muchas células clásicas de Reed-Sternberg e inflamación	<u>CD15, CD30</u>		Más común en hombres. Es más probable que se diagnostique en etapas avanzadas que la forma de esclerosis nodular. El virus de Epstein-Barr está involucrado en el 70% de los casos

Cáncer gástrico: también conocido como cáncer de estómago, que se refiere al cáncer que surge de cualquier parte del estómago. El cáncer de estómago a menudo es asintomático (no produce síntomas notables) o puede causar solo síntomas inespecíficos (síntomas que no son específicos solo del cáncer de estómago, sino también de otros trastornos relacionados o no relacionados) en sus primeras etapas. Se puede diagnosticar mediante un examen gastroscópico, una serie GI superior o una tomografía computarizada o un escaneado CT. Anteriormente se trata con cirugía, quimioterapia y radiación.

Cáncer colorrectal: también conocido como cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de intestino o adenocarcinoma colorrectal, es un cáncer de crecimiento celular descontrolado en el colon o el recto (partes del intestino grueso) o en el apéndice. Más del 75-95% del cáncer de colon ocurre en personas con poco o ningún riesgo genético. Otros factores de riesgo incluyen la edad avanzada, el sexo masculino, el alto consumo de grasas, alcohol o carne roja, la obesidad, el tabaquismo y la falta de ejercicio físico. Aproximadamente el 10% de los casos están vinculados a una actividad insuficiente. El riesgo de alcohol parece aumentar a más de una bebida por día. El cáncer colorrectal es una enfermedad que se origina en las células epiteliales que recubren el colon o el recto del tracto gastrointestinal, con mayor frecuencia como resultado de mutaciones en la vía de señalización de Wnt que aumentan artificialmente la actividad de señalización. Las mutaciones pueden ser heredadas o adquiridas, y muy probablemente ocurren en la célula madre de la cripta intestinal. Los genes en la vía de señalización de Wnt que están relacionados con el cáncer colorrectal incluyen, pero no se limitan a, APC, β -catenina, AXIN1, AXIN2, TCF7L2 o NKD1. Más allá de los defectos en la vía de señalización de Wnt-APC-beta-catenina, deben producirse otras mutaciones para que la célula se vuelva cancerosa. La proteína p53, producida por el gen TP53, normalmente controla la división celular y mata las células si tienen defectos en la vía Wnt. Finalmente, una línea celular adquiere una mutación en el gen TP53 y transforma el tejido de un adenoma en un carcinoma invasivo. Otras proteínas apoptóticas comúnmente desactivadas en los cánceres colorrectales son TGF- β y DCC. Otros oncogenes sobreexpresados en el cáncer colorrectal incluyen genes que codifican las proteínas KRAS, RAF y PI3K, que normalmente estimulan a la célula a dividirse en respuesta a factores de crecimiento, pueden adquirir mutaciones que provocan una sobreactivación de la proliferación celular. Además de las mutaciones oncogénicas e inactivadoras descritas para los genes anteriores, las muestras no hipermutadas también contienen CTNNB1, FAM123B, SOX9, ATM y ARID1A mutados. Progresando a través de un conjunto distinto de eventos genéticos, los tumores hipermutados muestran formas mutadas de ACVR2A, TGFBR2, MSH3, MSH6, SLC9A9, TCF7L2 y BRAF. El tema común entre estos genes, en ambos tipos de tumores, es su participación en las vías de señalización WNT y TGF- β , lo que a su vez resulta en una mayor actividad de MYC, un jugador central en el cáncer colorrectal.

Mieloma múltiple: también conocido como mieloma de células plasmáticas o enfermedad de Kahler, es un cáncer de células plasmáticas, un tipo de glóbulo blanco normalmente responsable de producir anticuerpos. Puede ser mieloma sintomático, mieloma asintomático y MGUS (gammopatía monoclonal de importancia indeterminada). El mieloma se diagnostica con análisis de sangre (electroforesis de proteínas séricas, análisis de cadena ligera kappa/lambda sin suero), examen de médula ósea, electroforesis de proteínas en orina y rayos X de huesos comúnmente afectados. Anteriormente se trata con esteroides, quimioterapia, inhibidores del proteasoma, medicamentos inmunomoduladores (IMiD) tales como talidomida o lenalidomida, y trasplantes de células madre.

Síndromes mielodisplásicos (MDS): el síndrome mielodisplásico ("MDS") se refiere a un grupo diverso de trastornos de células madre hematopoyéticas, que son afecciones médicas hematológicas (relacionadas con la sangre) con producción ineficaz (o displasia) de la clase mieloide de células sanguíneas. El MDS se caracteriza por una médula celular con morfología y maduración deterioradas (dismielopoyesis), citopenias de sangre periférica y un riesgo variable de progresión a leucemia aguda, como resultado de la producción ineficaz de células sanguíneas. The Merck Manual 953 (17th ed. 1999) y List et al., 1990, J. Clin. Oncol. 8:1424. The Merck Manual 953 (17th ed. 1999) y List et al., 1990, J. Clin. Oncol 8: 1424. Algunos tipos de MDS, denominados "MDS de bajo riesgo", progresan lentamente y pueden causar anemia leve a moderada o disminución de otros tipos de células. Algunos otros tipos de MDS se denominan "MDS de alto riesgo" y pueden causar problemas graves. En pacientes con MDS de alto riesgo, las células inmaduras llamadas células blásticas constituyen más del cinco por ciento de las células en la médula y no se convierten en glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas normales, lo que a menudo causa una deficiencia más severa en esas células/plaquetas. Cuando los pacientes con MDS desarrollan más del 20 por ciento de células blásticas, se reclasifican como que tienen AML con displasia de trilineaje (AML-TLD).

La lesión inicial de células madre hematopoyéticas puede deberse a causas tales como quimioterapia citotóxica, radiación, virus, exposición química y predisposición genética. Una mutación clonal predomina sobre la médula ósea, suprimiendo las células madre sanas. En las primeras etapas del MDS, la causa principal de las citopenias es el aumento de la muerte celular programada (apoptosis). A medida que la enfermedad progresa y se convierte en leucemia, rara vez se produce una mutación genética y una proliferación de células leucémicas abruma la médula sana. El curso de la enfermedad difiere, con algunos casos comportándose como una enfermedad indolente y otros comportándose agresivamente con un curso clínico muy corto que se convierte en una forma aguda de leucemia. Los pacientes con MDS pueden desarrollar anemia severa y requieren transfusiones de sangre. En algunos casos, la enfermedad empeora y el paciente desarrolla citopenias (recuentos sanguíneos bajos) causados por insuficiencia progresiva de la médula ósea.

Según la clasificación franco-estadounidense-británica publicada en 1976, que fue revisada en 1982, los casos se clasificaron en cinco categorías:

ICD-O	Nombre	Descripción
M9980/3	Anemia refractaria (AR)	caracterizado por menos del 5% de células sanguíneas primitivas (mieloblastos) en la médula ósea y anomalías patológicas observadas principalmente en precursores de glóbulos rojos
M9982/3	Anemia refractaria con sideroblastos en anillo (RARS)	también se caracteriza por menos del 5% de mieloblastos en la médula ósea, pero se distingue por la presencia de 15% o más de precursores de glóbulos rojos en la médula que son células anormales con relleno de hierro llamadas "sideroblastos en anillo"
M9983/3	Anemia refractaria con exceso de blastos (RAEB)	caracterizado por 5-20% de mieloblastos en la médula
M9984/3	Anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (RAEB-T)	caracterizado por 21-30% de mieloblastos en la médula (> 30% de blastos se define como leucemia mieloide aguda)
M9945/3	Leucemia mielomonocítica crónica (CMML), que no debe confundirse con leucemia mielógena crónica o CML	caracterizado por menos del 20% de mieloblastos en la médula ósea y más de $1 \times 10^9/L$ de monocitos (un tipo de glóbulo blanco) que circulan en la sangre periférica.

- 5 La World Health Organization (WHO) modificó esta clasificación, introduciendo varias categorías de enfermedades nuevas y eliminando otras. Más recientemente, la WHO ha desarrollado un nuevo esquema de clasificación (2008) que se basa más en hallazgos genéticos:

Sistema antiguo	Sistema nuevo
Anemia refractaria (RA)	Citopenia refractaria con displasia unilínea (anemia refractaria, neutropenia refractaria y trombocitopenia refractaria)
Anemia refractaria con sideroblastos en anillo (RARS)	Anemia refractaria con sideroblastos en anillo (RARS) Anemia refractaria con sideroblastos en anillo - trombocitosis (RARS-t) (entidad provisional) que es esencialmente un trastorno mielodisplásico/mieloproliferativo y generalmente tiene una mutación JAK2 (Janus kinasa)- Nueva clasificación de la WHO 2008
	Citopenia refractaria con displasia multilineal (RCMD) incluye el subconjunto Citopenia refractaria con displasia multilineal y sideroblastos en anillo (RCMD-RS). La RCMD incluye pacientes con cambios patológicos no restringidos a los glóbulos rojos (esto es, displasia prominente de precursores de glóbulos blancos y precursores de plaquetas (megacariocitos).
Anemia refractaria con exceso de blastos (RAEB)	Anemia refractaria con exceso de blastos I y II. RAEB se dividió en * blastos RAEB-I (5-9% de blastos) y RAEB-II (10-19%), que tiene un pronóstico más pobre que RAEB-I. Se pueden ver varillas Auer en RAEB-II, lo que puede ser difícil de distinguir de la leucemia mieloide aguda.
Anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (RAEB-T)	La categoría de RAEB-T fue eliminada; ahora se considera que tales pacientes tienen leucemia aguda. Se agregó a la clasificación el síndrome 5q, que generalmente se observa en mujeres mayores con recuentos de plaquetas normales o altos y deleciones aisladas del brazo largo del cromosoma 5 en las células de la médula ósea
Leucemia mielomonocítica crónica (CMML)	CMML se eliminó de los síndromes mielodisplásicos y se colocó en una nueva categoría de síndromes mielodisplásicos-mieloproliferativos superpuestos.
	5q- síndrome

	Mielodisplasia no clasificable (vista en aquellos casos de displasia de megacariocitos con fibrosis y otros)
	Citopenia refractaria de la infancia (displasia en la infancia)- Nueva clasificación de la WHO 2008

Los signos y síntomas de MDS incluyen anemia (recuento bajo de glóbulos rojos o hemoglobina reducida), con cansancio crónico, dificultad para respirar, sensación de frío, a veces dolor en el pecho; debilidad o sensación de cansancio, piel más pálida, moretones o sangrado fácil, petequias, fiebre, neutropenia (recuento bajo de neutrófilos), con mayor susceptibilidad a la infección; trombocitopenia (recuento bajo de plaquetas), con mayor susceptibilidad a sangrado y equimosis (hematomas), así como hemorragia subcutánea que resulta en púrpura o petequias; esplenomegalia o raramente hepatomegalia; gránulos anormales en las células, forma y tamaño nuclear anormal; y/o anomalías cromosómicas, incluidas las translocaciones cromosómicas y el número de cromosomas anormales.

Muchos factores pueden aumentar el riesgo de MDS, que incluyen ser hombre o blanco, tener más de 60 años, tratamiento previo con quimioterapia o radioterapia, estar expuesto a ciertos químicos, incluido el humo del tabaco, pesticidas y solventes como el benceno, y estar expuesto a metales pesados, tales como mercurio o plomo.

Los métodos de tratamiento anteriores para MDS incluyen el trasplante de médula ósea, el uso de factores de crecimiento hematopoyéticos o citocinas para estimular el desarrollo de células sanguíneas en un receptor, tales como la eritropoyetina (EPO), el factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF) y el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) (Metcalf, 1985, Science 229: 16; Dexter, 1987, J. Cell Sci. 88: 1; Golde and Gasson, 1988, Scientific American, July: 62; Tabbara and Robinson, 1991, Anti-Cancer Res. 11:81; Ogawa, 1989, Environ. Health Persp. 80:199; and Dexter, 1989, Br. Med. Bull. 45:337.). Desafortunadamente, el trasplante de hueso es doloroso para el donante y el receptor, y los factores de crecimiento hematopoyético no han demostrado ser eficaces en muchos entornos clínicos. Otros métodos incluyen 5-azacitidina, decitabina, lenalidomida, inmunosupresión, terapia de leucemia y enfoques de investigación.

En algunas realizaciones, la histología del cáncer se determina antes, durante o después del tratamiento. Se puede usar cualquier prueba apropiada para determinar la histología del cáncer. Dicha prueba y examen incluyen signos y síntomas comunes de cáncer de esófago, incluido el movimiento hacia atrás de los alimentos a través del esófago y posiblemente la boca (regurgitación), dolor en el pecho no relacionado con la alimentación, dificultad para tragar sólidos o líquidos, acidez estomacal, vómitos de sangre, ronquera, tos crónica, hipo, neumonía, dolor óseo, sangrado en el esófago y pérdida de peso, historial médico y examen físico, pruebas de imagen, rayos X de tórax, tomografía computarizada (TC), resonancia magnética (MRI), tomografía por emisión de positrones (PET), gammagrafía ósea, citología del esputo, biopsia con aguja, broncoscopia, ecografía endobronquial, ecografía esofágica endoscópica, mediastinoscopia y mediastinotomía, toracocentesis, toracoscopia, inmunohistoquímica, pruebas moleculares, análisis de sangre, deglución de bario, ecografía endoscópica, esofaogastroduodenoscopia (EGD) y biopsia, o cualquier método apropiado derivado de los mismos.

Vía de señalización de CDX2- KLF4

El término "vía de señalización CDX2-KLF4" como se usa en este documento se refiere a un grupo de moléculas biológicas que trabajan juntas para controlar una o más funciones celulares a través de CDX2 y/o KLF4, o al afectar la expresión o actividad de CDX2 o KLF4 como se describe en este documento, directa o indirectamente. A veces, el nivel de expresión y/o actividad de CDX2 y/o KLF4 también se conoce como "eje CDX2-KLF4".

CDX2, también conocida como caudal tipo homeobox 2, CDX3, factor de transcripción caudal tipo homeobox 2, proteína caudal tipo homeobox 2, o proteína homeobox CDX-2, es un miembro de la familia de genes del factor de transcripción homeobox relacionado con caudal. La proteína codificada es un importante regulador de genes específicos del intestino implicados en el crecimiento y la diferenciación celular. Esta proteína también juega un papel en el desarrollo embrionario temprano del tracto intestinal. La expresión aberrante de este gen se asocia con inflamación intestinal y tumorigénesis. Las enfermedades asociadas con CDX2 incluyen gastritis atrófica y adenocarcinoma de células en anillo de sello, y entre sus supervías relacionadas se encuentran el papel de transcripción de VDR en la regulación de genes implicados en la osteoporosis y la remodelación del citoesqueleto, regulación del citoesqueleto de actina por Rho GTPasas. Las anotaciones GO relacionadas con este gen incluyen la unión de ADN específica de secuencia de la región reguladora de la transcripción y la actividad del factor de transcripción de unión de ADN específico de la secuencia. Un parólogo importante de este gen es CDX1. Está implicado en la regulación transcripcional de múltiples genes expresados en el epitelio intestinal, y es importante en una amplia gama de funciones desde la diferenciación temprana hasta el mantenimiento del revestimiento epitelial intestinal de ambos el intestino delgado y grueso. Se informaron previamente secuencias de ADN y proteínas de CDX2 humano, véase GenBank Nos. NC_000013.10, NC_018924.2, NT_024524.14, NP_001256.3, ENSP00000370408, y Uniprot No. Q99626. Tales secuencias se pueden usar para diseñar procedimientos para la detección y análisis del nivel de actividad de CDX2 de formas conocidas para un experto en el arte. CDX2 se expresa de manera aberrante en la mayoría de los casos de leucemia mieloide aguda y promueve la

leucemogénesis (Scholl et al., The Journal of Clinical Investigation, 17(4): 1037-1048), con un número de copias de ARNm que varía entre aproximadamente 30 copias y aproximadamente 89,000 copias. Como se usa en este documento, la frase "el gen CDX2 está activado" o "la actividad CDX2 está activada" se refiere a que las copias de ARNm de CDX2 en un sujeto humano son al menos aproximadamente 30 copias. De lo contrario, se considera que el gen CDX2 está desactivado.

El factor 4 tipo a Krüppel (KLF4), también conocido como Gut, EZF, GKLF, proteína epitelial de dedo de zinc EZF, factor similar a Krueppel enriquecido-Gut, proteína de dedo de zinc similar a Krüppel endotelial o factor 4 tipo a Krueppel con enfermedades que incluyen, pero no se limitan a, leucemia, carcinoma de células escamosas de la piel y poliposis adenomatosa familiar. Un parólogo importante de este gen es KLF1. KLF4 puede actuar tanto como activador como como represor. Se une a la secuencia central de 5'-CACCC-3', tal como la región promotora de su propio gen. Regula la expresión de factores clave de transcripción durante el desarrollo embrionario y desempeña un papel importante en el mantenimiento de las células madre embrionarias y en la prevención de su diferenciación. Se requiere para establecer la función de barrera de la piel y para la maduración postnatal y el mantenimiento de la superficie ocular. También está implicado en la diferenciación de las células epiteliales y también puede funcionar en el desarrollo esquelético y renal. Además contribuye a la baja regulación de la transcripción p53/TP53, y la inducción de p21. Se informaron previamente secuencias de ADN y proteínas de KLF4 humano, véase GenBank Nos. NC_000009.11, NT_008470.19, NC_018920.2, y Uniprot No. O43474. Tales secuencias se pueden usar para diseñar procedimientos para la detección y análisis del nivel de actividad de KLF4 de formas conocidas para un experto en el arte.

p21, también conocido como inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A, Cip1, CDJN1, CIP1, WAF1, CAP20, MDA-6, SDI1, proteína que interactúa con CDK 1, proteína de interacción CDK 1, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1, inhibidor de síntesis de ADN, proteína asociada a la diferenciación de melanoma, p21CIP, fragmento activado por P53 de tipo salvaje, mDA6 o PC11, codifica un potente inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina. La proteína codificada se une e inhibe la actividad de los complejos ciclina-CDK2 o -CDK4, y de este modo funciona como un regulador de la progresión del ciclo celular en G1. La expresión de este gen está estrechamente controlada por la proteína supresora de tumores p53, a través de la cual esta proteína media la detención de la fase G1 del ciclo celular dependiente de p53 en respuesta a una variedad de estímulos de estrés. Esta proteína puede interactuar con el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), un factor accesorio de la ADN polimerasa, y desempeña un papel regulador en la replicación del ADN en fase S y en la reparación del daño del ADN. Se informó que esta proteína fue escindida específicamente por los espacios similares a CASP3, lo que conduce a una activación dramática de CDK2, y puede ser instrumental en la ejecución de la apoptosis después de la activación de la caspasa. Se han encontrado múltiples variantes empalmadas alternativamente para este gen. Se informaron previamente secuencias de ADN y proteínas de p21 humano, véase GenBank Nos. NC_000006.11, NT_007592.15, NC_018917.2 y Uniprot No. P38936. Tales secuencias se pueden usar para diseñar procedimientos para la detección y análisis del nivel de actividad de p21 por medios conocidos para un experto en el arte.

Algunos otros componentes de la vía de señalización de CDX2-KLF4 son H3K4 desmetilasa Jarid1b (KDM5B, también conocida como Plu-1 o Rbp2-h1), microRNA miR-2909, supresor tumoral p53 (también conocido como TP53 o proteína tumoral (EC: 2.7.1.37)), proteasa de ácido cisteína aspártico caspasa-3, anexina V, CLL de células B/linfoma 2 (BCL2), CLL de células B/linfoma 3 (BCL3), proteína X asociada a BCL2 (BAX), proteínas morfogenéticas óseas (BMP), Wnt (también conocido como murino int-1), factor nuclear de hepatocitos 4 α (HNF4 α), factores de crecimiento de fibroblastos (Fgf), homeobox (Hox), factor de transcripción SP1, factor de transcripción MYC, ciclina D1 (CCND1, también conocido como PRAD1), y factor de transcripción antagonista de la apoptosis (AATF).

Un agente activo de la presente divulgación puede modular la actividad de uno o más componentes en la vía de señalización de CDX2-KLF4. En algunas realizaciones, el agente activo es una molécula pequeña. En algunas realizaciones, el agente activo es un polipéptido, tal como un anticuerpo. En algunas realizaciones, el agente activo es un polinucleótido, tal como ARNip.

En algunas realizaciones, el agente activo modula el número de copia génica de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4. En algunas realizaciones, el agente activo puede aumentar o disminuir el número de copias de genes en 0.5X, 1.0X, 1.5X, 2X, 3X, 4X, 5X, 6X, 7X, 8X, 9X, 10X, 100X, 1000X, 10000X o más en comparación con el número de copia del gen antes del tratamiento.

En algunas realizaciones, el agente activo modula la abundancia de ARNm de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4. En algunas realizaciones, el agente activo puede aumentar o disminuir la abundancia de ARNm en 0.5X, 1.0X, 1.5X, 2X, 3X, 4X, 5X, 6X, 7X, 8X, 9X, 10X, 100X, 1000X, 10000X o más en comparación con la abundancia de ARNm antes del tratamiento.

En algunas realizaciones, el agente activo modula el nivel de proteína de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4. En algunas realizaciones, el agente activo puede aumentar o disminuir el nivel de proteína en 0.5X, 1.0X, 1.5X, 2X, 3X, 4X, 5X, 6X, 7X, 8X, 9X, 10X, 100X, 1000X, 10000X o más en comparación con el nivel de proteína antes del tratamiento.

En algunas realizaciones, el agente activo modula la estabilidad de ARNm y/o proteína de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4. En algunas realizaciones, el agente activo puede aumentar o disminuir la estabilidad en comparación con la estabilidad antes del tratamiento.

5 En algunas realizaciones, el agente activo modula la actividad enzimática de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4. En algunas realizaciones, el agente activo puede aumentar o disminuir la actividad enzimática en comparación con la estabilidad antes del tratamiento.

10 La actividad de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4 se puede determinar mediante cualquier método apropiado conocido para un experto en el arte. En algunas realizaciones, se toma una muestra biológica de un sujeto y se analiza. En algunas realizaciones, la muestra biológica se analiza luego para determinar la actividad de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4, tal como número de amplificación génica, ARN, ARNm, ADNc, ARNc o proteína.

15 En algunas realizaciones, el ARNm de una muestra biológica se usa directamente para determinar el nivel de actividad. En algunas realizaciones, el nivel se determina por hibridación. En algunas realizaciones, el ARN se transforma en una copia de ADNc (ADN complementario) usando métodos conocidos en la técnica. En algunas realizaciones particulares, el ADNc se marca con una etiqueta fluorescente u otra etiqueta detectable. El ADNc se hibrida luego con un sustrato que contiene una pluralidad de sondas de interés. Una sonda de interés por lo general hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con al menos una secuencia de ADN de una firma génica. En ciertas realizaciones, la pluralidad de sondas es capaz de hibridarse con las secuencias derivadas de los biomarcadores de genes en las condiciones de hibridación. En algunas realizaciones, las condiciones comprenden usar 6XSSC (NaCl 0.9 M, citrato de sodio 0.09 M, pH 7.4) a 65 °C. Las sondas pueden comprender ácidos nucleicos. El término "ácido nucleico" abarca análogos de nucleótidos conocidos o residuos o enlaces de cadena principal modificados, que son sintéticos, de origen natural y de origen no natural, que tienen propiedades de unión similares al ácido nucleico de referencia, y que se metabolizan de manera similar a los nucleótidos de referencia. Los ejemplos de tales análogos incluyen, sin limitación, fosforotioatos, fosforamidatos, metilfosfonatos, quiral-metilfosfonatos, ácidos péptidos-nucleicos (PNA). Los métodos de detección pueden incluir RT-PCR, análisis de transferencia Northern, análisis de expresión génica, análisis de micromatrices, análisis de chips de expresión génica, técnicas de hibridación (incluyendo FISH), matrices de chips de expresión y cromatografía, así como cualquier otra técnica conocida en la técnica. Los métodos de detección ADN pueden incluir PCR, PCR en tiempo real, PCR digital, hibridación (incluido FISH), análisis de micromatrices, ensayos de detección SNP, ensayos de genotipado SNP y cromatografía, así como cualquier otra técnica conocida en la técnica.

20 En algunas realizaciones, el nivel de expresión de proteína se usa para determinar el nivel de actividad. El nivel de expresión de proteínas de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4 se puede determinar mediante cualquier método apropiado conocido para un experto en el arte. Se puede usar cualquier método apropiado de detección, cuantificación y comparación de proteínas, tales como los descritos en Tschesche (Methods in Protein Biochemistry, ISBN Walter de Gruyter, 2011, ISBN 3110252368, 9783110252361), Goluch et al. (Chip-based detection of protein cancer markers, ProQuest, 2007, ISBN 0549463453, 9780549463450), Speicher (Proteome Analysis: Interpreting the Genome, Elsevier, 2004, ISBN 0080515304, 9780080515304), Albala et al. (Protein Arrays, Biochips and Proteomics, CRC Press, 2003, ISBN 0203911121, 9780203911129), Walker (The Protein Protocols Handbook, Springer, 2002, ISBN 0896039404, 9780896039407), Fung (Protein Arrays: Methods and Protocols, Springer, 2004, ISBN 1592597599, 9781592597598), and Bienvenut (Acceleration and Improvement of Protein Identification by Mass Spectrometry, Springer, 2005, ISBN 1402033184, 9781402033186). En algunas realizaciones, el nivel de expresión proteica de los biomarcadores se detecta y mide mediante inmunohistoquímica (IHC), transferencia Western, inmunotinción de proteínas, inmunoprecipitación de proteínas, inmunoelctroforesis, inmunotransferencia, ensayo BCA, espectrofotometría, espectrometría de masas o ensayo enzimático, o combinaciones de los mismos. Para métodos adicionales relacionados con la detección, cuantificación y comparación de niveles de biomarcadores, véase, por ejemplo, Current Protocols in Molecular Biology, Ed. Ausubel, Frederick M. (2010); Current Protocols in Protein Science Last, Ed. Coligan, John E., et al. (2010); Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, Ed. Egli, Martin (2010); Current Protocols in Bioinformatics, Ed. Baxevanis, Andreas D. (2010); y Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Third Edition, Sambrook, Joseph (2001).

30 En algunas realizaciones, el anticuerpo de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4 se puede usar como un agente activo. En algunas realizaciones, el anticuerpo de un componente en la vía de señalización CDX2-KLF4 que controla negativamente KLF4 y/o p21, o un componente en la vía de señalización CDX2-KLF4 que está controlado negativamente por KLF4 y/o p21 se puede usar como un agente activo. Por ejemplo, los anticuerpos de CDX2 se pueden usar para tratar los cánceres de la presente invención.

35 En algunas realizaciones, el anticuerpo de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4 se puede usar para detectar el nivel de proteína del componente. En algunas realizaciones, se usa un kit para detección. Tales anticuerpos y kits están disponibles en EMD Millipore, OriGene Custom Assay Services, R&D Systems for biochemical assays, GenScript Custom Assay Services, Enzo Life Sciences for kits & assays, Cloud-Clone Corp. ELISAs, o Cloud-Clone Corp. CLIAS. El término "anticuerpo" como se usa en este documento pretende incluir anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales y anticuerpos quiméricos. El anticuerpo puede ser de fuentes recombinantes y/o producirse en animales transgénicos. El término "fragmento de anticuerpo" como se usa en este

documento pretende incluir Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, dsFv, ds-scFv, dímeros, minicuerpos, diacuerpos y multímeros de los mismos y fragmentos de anticuerpos bioespecíficos. Los anticuerpos se pueden fragmentar usando técnicas convencionales. Por ejemplo, los fragmentos F(ab')₂ se pueden generar tratando el anticuerpo con pepsina. El fragmento F(ab')₂ resultante se puede tratar para reducir los puentes disulfuro para producir fragmentos Fab'. La digestión con papaína puede conducir a la formación de fragmentos Fab. Fab, Fab' y F(ab')₂, scFv, dsFv, ds-scFv, dímeros, minicuerpos, diacuerpos, fragmentos de anticuerpos bioespecíficos y otros fragmentos también se pueden sintetizar mediante técnicas recombinantes.

Los inmunoensayos realizados de acuerdo con la presente divulgación pueden ser ensayos homogéneos o ensayos heterogéneos. En un ensayo homogéneo, la reacción inmunológica generalmente implica el anticuerpo específico, un analito marcado y la muestra de interés. La señal que surge de la etiqueta se modifica, directa o indirectamente, al unirse el anticuerpo al analito marcado. Tanto la reacción inmunológica como la detección de su extensión pueden llevarse a cabo en una solución homogénea. Los marcadores inmunológicos que se pueden emplear incluyen radicales libres, radioisótopos, colorantes fluorescentes, enzimas, bacteriófagos o coenzimas.

En un enfoque de ensayo heterogéneo, los reactivos suelen ser la muestra, el anticuerpo y los medios para producir una señal detectable. Se pueden usar muestras como las descritas anteriormente. El anticuerpo se puede inmovilizar sobre un soporte, tal como una cuenta (tal como las cuentas de proteína A y proteína G de agarosa), placa o portaobjetos, y ponerse en contacto con la muestra sospechosa de contener el antígeno en una fase líquida. El soporte se separa luego de la fase líquida y se examina la fase de soporte o la fase líquida para detectar una señal detectable que emplee medios para producir tal señal. La señal está relacionada con la presencia del analito en la muestra. Los medios para producir una señal detectable incluyen el uso de marcadores radioactivos, marcadores fluorescentes o marcadores enzimáticos. Por ejemplo, si el antígeno a detectar contiene un segundo sitio de unión, un anticuerpo que se une a ese sitio se puede conjugar con un grupo detectable y agregar a la solución de reacción en fase líquida antes de la etapa de separación. La presencia del grupo detectable en el soporte sólido indica la presencia del antígeno en la muestra de prueba. Los ejemplos de inmunoensayos apropiados incluyen oligonucleótidos, inmunotransferencia, inmunoprecipitación, métodos de inmunofluorescencia, métodos de quimioluminiscencia, electroquimioluminiscencia (ECL) o inmunoensayos ligados a enzimas.

Los expertos en el arte estarán familiarizados con numerosos formatos de inmunoensayo específicos y variaciones de los mismos que pueden ser útiles para llevar a cabo el método descrito en este documento. Véase generalmente E. Maggio, *Enzyme-Immunoassay*, (1980) (CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.); véase también la Patente de los Estados Unidos No. 4,727,022, la Patente de los Estados Unidos No. 4,659,678, la Patente de los Estados Unidos No. 4,376,110, la Patente de los Estados Unidos No. 4,275,149, la Patente de los Estados Unidos No. 4,233,402, la Patente de los Estados Unidos No. 4,230,767.

Los anticuerpos se pueden conjugar con un soporte sólido apropiado para un ensayo de diagnóstico (por ejemplo, cuentas tales como proteína A o proteína G agarosa, microesferas, placas, portaobjetos o pocillos formados a partir de materiales tales como látex o poliestireno) de acuerdo con técnicas conocidas, tales como la unión pasiva. Los anticuerpos como se describen en este documento también se pueden conjugar con marcadores o grupos detectables tales como radiomarcadores (por ejemplo, ³⁵S, ¹²⁵I, ¹³¹I), marcadores enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina) y etiquetas fluorescentes (por ejemplo, fluoresceína, Alexa, proteína fluorescente verde, rodamina) de acuerdo con técnicas conocidas.

Los anticuerpos también pueden ser útiles para detectar modificaciones postraduccionales de proteínas, polipéptidos, mutaciones y polimorfismos, tales como fosforilación de tirosina, fosforilación de treonina, fosforilación de serina, glicosilación (por ejemplo, O-GlcNAc). Tales anticuerpos detectan específicamente los aminoácidos fosforilados en una proteína o proteínas de interés, y se pueden usar en ensayos de inmunotransferencia, inmunofluorescencia y ELISA descritos en este documento. Estos anticuerpos son bien conocidos para los expertos en el arte y están disponibles comercialmente. Las modificaciones postraduccionales también se pueden determinar usando iones metaestables en la desorción láser asistida por matriz reflectora, ionización por espectrometría de masas de tiempo de vuelo (MALDITOF) (Wirth, U. et al. (2002) *Proteomics* 2(10): 1445-51).

En algunas realizaciones, los reactivos de detección se pueden inmovilizar en una matriz sólida tal como una tira porosa para formar al menos un sitio de detección. En algunas realizaciones, se usan matrices o micromatrices de polinucleótidos o polipéptidos que contienen una pluralidad de agentes de detección que hibridan con nucleótidos o polipéptidos de los biomarcadores. Alternativamente, la matriz de sustrato puede estar en, por ejemplo, un sustrato sólido, por ejemplo, un "chip" como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 5,744,305. Alternativamente, la matriz de sustrato puede ser una matriz de solución.

Los ejemplos no limitantes para composiciones y métodos de detección los componentes en la vía de señalización de CDX2-KLF4 se describen en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 4762706, 5081230, 5300631, 5443956, 7695926, 7785817, 7479376, 7364868 y las Publicaciones de la Patente de los Estados Unidos Nos. 20050196793, 20110281277, 20120251509, 20050186642, 20140011279, 20110171221, 20040235073, 20130011411, y 20130034862.

Composiciones anticancerígenas

Las composiciones anticancerígenas que se pueden usar en la presente invención comprenden al menos un agente activo. En algunas realizaciones, el agente activo puede modular la actividad de la vía de señalización de CDX2-KLF4. Como se usa en este documento, el término "modular" se refiere a que las composiciones pueden aumentar, disminuir, eliminar, mejorar, retrasar, reducir o bloquear la actividad de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4. En algunas realizaciones, los compuestos pueden disminuir la actividad de CDX2 y/o aumentar la actividad de KLF4 en un sujeto humano. En algunas realizaciones, los compuestos pueden aumentar o disminuir la actividad de uno o más componentes aguas arriba o aguas abajo en la vía de señalización. En algunas realizaciones, los compuestos pueden aumentar la actividad de uno o más componentes aguas abajo que están regulados positivamente por KLF4 (por ejemplo, p21), o disminuir la actividad de uno o más componentes aguas abajo en la vía de señalización que están regulados negativamente por KLF4 (por ejemplo, SP1). En algunas realizaciones, los compuestos pueden disminuir la actividad de uno o más componentes aguas abajo que están regulados positivamente por CDX2, o aumentar la actividad de uno o más componentes aguas abajo en la vía de señalización que están regulados negativamente por CDX2.

Sin desear estar sujeto a ninguna teoría en particular, los agentes anticancerígenos de la presente invención pueden actuar a través de uno o más mecanismos. Tales mecanismos incluyen: (1) inhibición de la actividad de CDX2; (2) inducción de la actividad de KLF4; (3) inducción del inhibidor de p21 CDK; (4) inducción de la detención del ciclo celular G1/S; (5) inducción de la enzima caspasa 3; y (6) inducción de apoptosis.

Los agentes activos pueden ser compuestos o composiciones químicas, moléculas biológicas o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, los agentes activos son moléculas pequeñas. Como se usa en este documento, el término "molécula pequeña" se refiere a una molécula que tiene un peso molecular de menos de 500 MW, en la que el fármaco es un agente no peptídico o peptídico. En algunas realizaciones, los agentes activos son anticuerpos. En algunas realizaciones, los agentes activos son anticuerpos. En algunas realizaciones, los agentes activos son polinucleótidos, tales como ARNip.

En algunas realizaciones, los agentes activos contienen una o más entidades que pueden inhibir o disminuir la actividad de CDX2, por ejemplo, a nivel de ADN, ARN, proteína o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, los agentes activos contienen uno o más anticuerpos que pueden reducir, inhibir o retrasar la actividad de un componente en la vía de señalización de CDX2-KLF4 que regula negativamente KLF4, o regulado negativamente por KLF4. En algunas realizaciones, el componente puede ser CDX2, p53, p21, caspasa-3, Anexina V, BAX, BCL2, BCL3, BMP, Wnt, HNF4 α , Fgf, Hox, SP1, MYC, CCND1, o AATF. En algunas realizaciones, los agentes activos son anticuerpos. En algunas realizaciones, los agentes activos son ARNip. Por ejemplo, el agente anti-CDX2 es un anticuerpo anti-CDX2. De acuerdo con la presente divulgación, un anticuerpo anti-CDX2 comprende al menos una o más CDR anti-CDX2.

Por ejemplo, las tecnologías de ARN antisentido, ribozima, dsARNi, interferencia de ARN (ARNi) se pueden usar en la presente divulgación para dirigir transcripciones de ARN de uno o más componentes en la vía de señalización CDX2-KLF4. La tecnología de ARN antisentido implica expresar, o introducir en una célula, una molécula de ARN (o derivado de ARN) que es complementaria o antisentido de secuencias encontradas en un ARNm particular en una célula. Al asociarse con el ARNm, el ARN antisentido puede inhibir la traducción del producto génico codificado. Por ejemplo, los agentes anti-CDX2 pueden ser pequeñas moléculas de ARN de interferencia, tales como las descritas por Wang et al. ("siRNA targeting of Cdx2 inhibits growth of human gastric cancer MGC-803 cells", *World J Gastroenterol.* Apr 28, 2012; 18(16): 1903-1914.)

La interferencia de ARN (ARNi) es el procedimiento de silenciamiento génico post-transcripcional específico de secuencia o silenciamiento génico transcripcional en animales y plantas, iniciado por ARN bicatenario (dsARN) que es homólogo en secuencia con el gen silenciado. La técnica de ARNi se discute, por ejemplo, en Elbashir, et al., *Methods Enzymol.* 26:199 (2002); McManus & Sharp, *Nature Rev. Genetics* 3:737 (2002); PCT application WO 01/75164; Martínez et al., *Cell* 110:563 (2002); Elbashir et al., supra; Lagos-Quintana et al., *Curr. Biol.* 12:735 (2002); Tuschl et al., *Nature Biotechnol.* 20:446 (2002); Tuschl, *ChemBiochem.* 2:239 (2001); Harborth et al., *J. Cell Sci.* 114:4557 (2001); et al., *EMBO J.* 20:6877 (2001); Lagos-Quintana et al., *Science* 294:8538 (2001); Hutvagner et al., loc cit, 834; Elbashir et al., *Nature* 411:494 (2001).

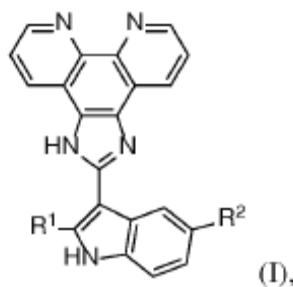
El término "dsARN" o "molécula de dsARN" o "molécula efectora de ARN de doble cadena" se refiere a una molécula de ácido ribonucleico al menos parcialmente bicatenario que contiene una región de al menos aproximadamente 19 o más nucleótidos que están en una conformación bicatenaria. La molécula efectora de ARN bicatenario puede ser un ARN bicatenario dúplex formado a partir de dos cadenas de ARN separadas o puede ser una cadena de ARN única con regiones de autocomplementariedad capaces de asumir una conformación de horquilla de doble cadena al menos parcialmente (esto es, un dsARN de horquilla o dsARN de asa y bucle). En diversas realizaciones, el dsARN consiste completamente en ribonucleótidos o consiste en una mezcla de ribonucleótidos y desoxinucleótidos, tales como híbridos de ARN/ADN. El dsARN puede ser una molécula única con regiones de autocomplementariedad, de manera que los nucleótidos en un segmento del par de bases de la molécula con los nucleótidos en otro segmento de la molécula. En un aspecto, las regiones de autocomplementariedad están unidas por una región de al menos aproximadamente 3-4 nucleótidos, o aproximadamente 5, 6, 7, 9 a 15 nucleótidos o más, que carece de complementariedad con otra parte de la molécula y, de este modo,

permanece monocatenario (esto es, la "región de bucle"). Dicha molécula asumirá una estructura de bucle de vástago parcialmente bicatenario, opcionalmente, con extremos cortos de 5' y/o 3' de cadena simple. En un aspecto, las regiones de autocomplementariedad del dsARN de horquilla o la región de doble cadena de un dsARN dúplex comprenderán una secuencia efectora y un complemento efectora (por ejemplo, unidos por una región de bucle monocatenaria en un dsARN horquilla). La secuencia efectora o cadena efectora es la cadena de la región bicatenaria o dúplex que se incorpora o se asocia con RISC. En un aspecto, la molécula efectora de ARN bicatenario comprenderá al menos 19 secuencias efectoras de nucleótidos contiguas, preferiblemente 19 a 29, 19 a 27, o 19 a 21 nucleótidos, que es un complemento inverso al ARN de un gen diana, o un intermedio de replicación de cadena opuesta, o las secuencias anti-genómicas más cadena o secuencias no ARNm más cadena del gen diana.

En algunas realizaciones, la molécula efectora de dsARN de la divulgación es un "dsARN de horquilla", una "horquilla de dsARN", "ARN de horquilla corta" o "shARN", esto es, una molécula de ARN de menos de aproximadamente 400 a 500 nucleótidos (nt), o menos de 100 a 200 nt, en los que se basa al menos un tramo de al menos 15 a 100 nucleótidos (por ejemplo, 17 a 50 nt, 19 a 29 nt) se basa emparejado con una secuencia complementaria ubicada en la misma molécula de ARN (cadena de ARN simple), y donde dicha secuencia y secuencia complementaria están separadas por una región no emparejada de al menos aproximadamente 4 a 7 nucleótidos (o aproximadamente 9 a aproximadamente 15 nt, aproximadamente 15 a aproximadamente 100 nt, aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 nt) que forma un bucle monocatenario sobre la estructura del tallo creada por las dos regiones de complementariedad de la base. Las moléculas de shARN comprenden al menos una estructura de tallo-bucle que comprende una región de tallo bicatenario de aproximadamente 17 a aproximadamente 100 bp; aproximadamente 17 a aproximadamente 50 bp; aproximadamente 40 a aproximadamente 100 bp; aproximadamente 18 a aproximadamente 40 bp; o desde aproximadamente 19 a aproximadamente 29 bp; homólogo y complementario a una secuencia diana que se va a inhibir; y una región de bucle no apareado de al menos aproximadamente 4 a 7 nucleótidos, o aproximadamente 9 a aproximadamente 15 nucleótidos, aproximadamente 15 a aproximadamente 100 nt, aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 nt, que forma un bucle monocatenario por encima de la estructura del tallo creada por el dos regiones de complementariedad de base. Sin embargo, se reconocerá que no es estrictamente necesario incluir una "región de bucle" o "secuencia de bucle" porque una molécula de ARN que comprende una secuencia seguida inmediatamente por su complemento inverso tenderá a asumir una conformación de tallo-bucle incluso cuando no se separan por una secuencia irrelevante de "relleno".

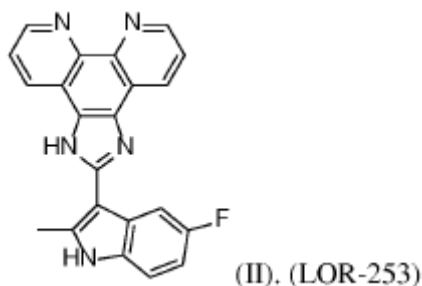
En algunas realizaciones, los agentes activos contienen una o más entidades que pueden aumentar la actividad de KLF4, o aumentar la actividad de una entidad en la vía de señalización de CDX2-KLF4 que está regulada positivamente por KLF4, o aumentar la actividad de una entidad que puede regular positivamente KLF4, por ejemplo, a nivel de ADN, ARN, proteína o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el agente activo de la presente divulgación es un derivado de 2-indolil imidazo[4,5-d]fenantrolina, tal como los descritos en la Patente de los Estados Unidos No. 8,148,392 o la Publicación de la Patente de los Estados Unidos No. 2007/0123553A1.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene la estructura de fórmula I, o una sal del mismo:

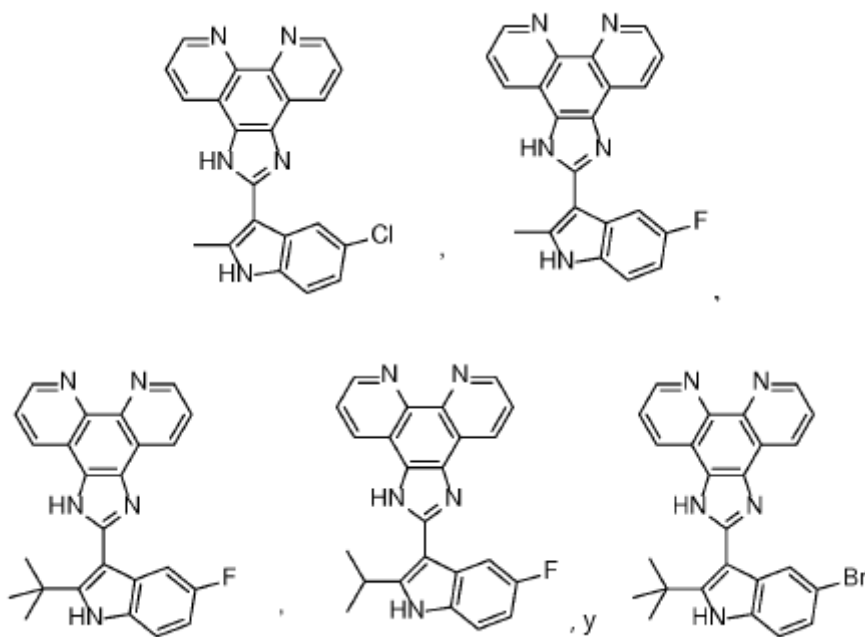


En la que R1 es alquilo C1-C4; y R2 es halógeno. En algunas realizaciones, R1 es metilo, isopropilo o t-butilo.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene la estructura de fórmula II, o una sal del mismo:



En algunas realizaciones, dicho compuesto tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en



Los agentes activos de la presente invención se formulan por lo general antes de la administración. La presente invención proporciona de este modo composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más agentes activos de la presente invención. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas se preparan por procedimientos conocidos usando ingredientes bien conocidos y fácilmente disponibles.

Los agentes activos de la presente invención o las composiciones farmacéuticas que comprenden los agentes activos se pueden administrar mediante cualquier método apropiado, incluyendo por vía oral, tópica, parenteral, por inhalación o pulverización, o rectalmente en formulaciones de unidades de dosificación. En una realización, la composición farmacéutica se administra por vía parenteral, paracanceral, transmucosa, transdérmica, intramuscular, intravenosa, intradérmica, subcutánea, intraperitoneal, intraventricular, intracraneal e intratumoral. En algunas realizaciones, las formulaciones de unidades de dosificación contienen portadores, adyuvantes y vehículos no tóxicos convencionales farmacéuticamente aceptables. En el curso habitual de la terapia, el agente activo se incorpora en un vehículo aceptable para formar una composición para administración tópica en el área afectada, tales como cremas o lociones hidrófobas o hidrófilas, o en una forma apropiada para administración oral, rectal o parenteral, tales como jarabes, elixires, comprimidos, grageas, comprimidos para deshacer en la boca, cápsulas duras o blandas, píldoras, supositorios, suspensiones oleosas o acuosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, inyectables o soluciones. El término parenteral, como se usa en este documento, incluye inyecciones subcutáneas, intradérmicas, intraarticulares, intravenosas, intramusculares, intravasculares, intraestérmicas, inyección intratecal o técnicas de infusión.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los agentes activos de la presente invención y un vehículo, tal como una vesícula de membrana artificial (que incluye un liposoma o una micela lipídica), micropartículas o microcápsulas.

Las composiciones destinadas para uso oral se pueden preparar en formas de dosificación unitarias ya sea sólidas o fluidas. La forma de dosificación unitaria fluida se puede preparar según los procedimientos conocidos en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Se prepara un elixir usando un vehículo hidroalcohólico (por ejemplo, etanol) con edulcorantes apropiados tales como azúcar y sacarina, junto con un agente aromatizante aromático. Las suspensiones se pueden preparar con un vehículo acuoso con la ayuda de un agente de suspensión tales como acacia, tragacanto o metilcelulosa.

Las formulaciones sólidas tales como comprimidos contienen el ingrediente activo mezclado con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables que son apropiados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia. y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de

magnesio, ácido esteárico o talco y otros ingredientes convencionales como fosfato dicálcico, silicato de aluminio y magnesio, sulfato de calcio, almidón, lactosa, metilcelulosa y materiales funcionalmente similares. Los comprimidos pueden no estar recubiertos o pueden estar recubiertos por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar como cápsulas de gelatina duras en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva. Las cápsulas de gelatina blanda se preparan por encapsulación en máquina de una lechada del compuesto con un aceite vegetal aceptable, vaselina líquida ligera u otro aceite inerte.

Las suspensiones acuosas contienen materiales activos mezclados con excipientes apropiados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidropropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga: los agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfátido de origen natural, por ejemplo, lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos, por ejemplo, estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo hepta-decaetilenoxietanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietilensorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietilen sorbitano. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, etilo, o n-propil-hidroxibenzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes o uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo los ingredientes activos en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de maní, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden agregar agentes edulcorantes tales como los expuestos anteriormente, y agentes saborizantes para proporcionar preparaciones orales sabrosas. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

Los polvos y gránulos dispersables apropiados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión apropiados se ejemplifican por los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo aceite de oliva o aceite de maní, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de estos. Los agentes emulsionantes apropiados pueden ser gomas de origen natural, por ejemplo goma de acacia o goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural, por ejemplo, soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, anhídridos, por ejemplo, monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietilensorbitán. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con la técnica conocida usando aquellos agentes dispersantes o humectantes apropiados y agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución inyectable estéril o una suspensión en un diluyente o disolvente no tóxico parentalmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites estériles fijos se emplean convencionalmente como solvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables. Los adyuvantes tales como anestésicos locales, conservantes y agentes reguladores también se pueden incluir en la solución o suspensión inyectable.

En algunas realizaciones, los sistemas de administración apropiados incluyen sistemas de administración de liberación prolongada, liberación retardada, liberación sostenida o liberación controlada. En algunas realizaciones, una composición de la presente invención se puede administrar en un sistema de liberación controlada, tal como matrices de liberación sostenida. Los ejemplos no limitantes de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli (2-hidroxietil-metacrilato) como se describe por Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res., 15:167-277 y Langer, 1982, Chem. Tech., 12:98-105), o poly(vinylalcohol)], polylactides (la Patente de los Estados Unidos No. 3,773,919; EP 58,481), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato (Sidman et

al., 1983, Biopolymers, 22:547-556), etileno-acetato de vinilo no degradable (Langer et al., supra), copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables tales como LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida), y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico (documento EP 133,988). En algunas realizaciones, la composición se puede administrar usando infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche transdérmico, liposomas u otros modos de administración. En una realización, se puede usar una bomba (véase Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989). En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos. En otra realización más, se puede colocar un sistema de liberación controlada cerca del objetivo terapéutico, por ejemplo hígado, que requiere de este modo solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, en Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp.115-138 (1984). Otros sistemas de liberación controlada se analizan en la revisión de Langer (Science 249:1527-1533 (1990).

En algunas realizaciones, la liberación de la composición se produce en ráfagas. Los ejemplos de sistemas en los que se produce la liberación en ráfagas incluyen, por ejemplo, sistemas en los que la composición está atrapada en liposomas que están encapsulados en una matriz polimérica, siendo los liposomas sensibles a estímulos específicos, por ejemplo, temperatura, pH, luz o una enzima degradante y sistemas en los que la composición está encapsulada por una microcápsula recubierta iónicamente con una enzima que degrada el núcleo de la microcápsula.

En algunas realizaciones, la liberación de la composición es gradual/continua. Los ejemplos de sistemas en los que la liberación del inhibidor es gradual y continua incluyen, por ejemplo, sistemas erosivos en los que la composición está contenida en una forma dentro de una matriz y sistemas efusivos en los que la composición penetra a una velocidad controlada, por ejemplo, a través de un polímero. Tales sistemas de liberación sostenida pueden ser, por ejemplo, en forma de pellas o cápsulas.

Otras realizaciones de las composiciones administradas según la invención incorporan formas particuladas, recubrimientos protectores, inhibidores de proteasas o potenciadores de permeación para diversas rutas de administración, tales como parenteral, pulmonar, nasal y oral.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar, juntas o por separado, en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante apropiado que es sólido a temperaturas normales pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen manteca de cacao y polietilenglicoles.

Otras composiciones farmacéuticas y métodos de preparación de composiciones farmacéuticas se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en "Remington: The Science and Practice of Pharmacy" (anteriormente "Remingtons Pharmaceutical Sciences"); Gennaro, A., Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa. (2000).

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar a un sujeto por una variedad de rutas dependiendo del cáncer que se va a tratar, por ejemplo, las composiciones se pueden administrar por vía oral, tópica, parenteral, por inhalación o pulverización, o rectalmente en formulaciones de dosis unitarias. En una realización, los compuestos se administran sistémicamente a un sujeto, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión en el torrente sanguíneo de un sujeto o mediante administración oral. Cuando se usan junto con uno o más agentes quimioterapéuticos conocidos, los compuestos se pueden administrar antes o después de la administración de los agentes quimioterapéuticos, o se pueden administrar de forma concomitante. El uno o más quimioterapéuticos también se pueden administrar sistémicamente, por ejemplo, mediante inyección en bolo, infusión o administración oral.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar como parte de una terapia neoadyuvante (a terapia primaria), o como parte de un régimen de terapia adyuvante. La presente invención contempla el uso de las composiciones farmacéuticas de la presente invención en diversas etapas en el desarrollo y progresión del tumor, incluido el tratamiento de neoplasias avanzadas y/o agresivas (esto es, enfermedad manifiesta en un sujeto que no es susceptible de curación por modalidades locales del tratamiento, tales como cirugía o radioterapia), enfermedad metastásica, enfermedad localmente avanzada y/o tumores refractarios (esto es, un cáncer o tumor que no ha respondido al tratamiento). Como se usa en este documento, el término "terapia primaria" se refiere a una primera línea de tratamiento tras el diagnóstico inicial de cáncer en un sujeto. Las terapias primarias de ejemplo pueden incluir cirugía, una amplia gama de quimioterapias y radioterapia. La "terapia adyuvante" se refiere a una terapia que sigue a una terapia primaria y que se administra a sujetos en riesgo de recaída. La terapia sistémica adyuvante generalmente comienza poco después de la terapia primaria para retrasar la recurrencia, prolongar la supervivencia o curar a un sujeto.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar solas o en combinación con uno o más agentes anticancerígenos, tales como agentes quimioterapéuticos como parte de una terapia primaria o una terapia adyuvante. Las combinaciones de las composiciones farmacéuticas de la presente invención y la quimioterapia estándar pueden actuar para mejorar la eficacia de la quimioterapia y, por lo tanto, se pueden usar para mejorar las terapias estándar contra el cáncer. Esta solicitud puede ser importante en el tratamiento de cánceres resistentes a

los fármacos que no responden al tratamiento estándar. Los cánceres resistentes a los fármacos pueden surgir, por ejemplo, de la heterogeneidad de las poblaciones de células tumorales, las alteraciones en respuesta a la quimioterapia y el aumento del potencial maligno. Tales cambios son a menudo más pronunciados en las etapas avanzadas de la enfermedad.

- 5 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar solas o en combinación con radioterapia. En algunas realizaciones, la radioterapia se administra a una dosificación de aproximadamente 40 Gy a aproximadamente 80 Gy. En algunas realizaciones la dosificación es de aproximadamente 50 Gy a aproximadamente 70 Gy, en algunas realizaciones, la dosificación es aproximadamente 50 Gy a aproximadamente 65 Gy. En algunas realizaciones, la radioterapia se administra a una dosificación de aproximadamente 50 Gy, aproximadamente 55 Gy, aproximadamente 60 Gy o aproximadamente 65 Gy.

- 10 La dosificación que se va a administrar no está sujeta a límites definidos, pero generalmente será una cantidad eficaz. Habitualmente será el equivalente, sobre una base molar, de la forma libre farmacológicamente activa producida a partir de una formulación de dosificación tras la liberación metabólica del fármaco libre activo para lograr los efectos farmacológicos y fisiológicos deseados. Las composiciones se pueden formular en una forma de dosificación unitaria. El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas apropiadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, cada unidad que contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico apropiado.

- 15 En algunas realizaciones, los agentes activos son compuestos que tienen la estructura de fórmulas descritas en este documento. Sin embargo, se entenderá que la cantidad real de los compuestos que se van a administrar será determinada por un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, incluida la condición que se va a tratar, la ruta de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, y la gravedad de los síntomas del paciente. En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis aún mayores sin causar efectos secundarios dañinos, por ejemplo, dividiendo primero la dosis más grande en varias dosis más pequeñas para la administración durante todo el día.

- 20 Las dosis para un individuo en particular pueden ser determinadas por un experto en el arte usando consideraciones convencionales (por ejemplo, mediante un protocolo farmacológico convencional apropiado). Un médico puede, por ejemplo, recetar una dosis relativamente baja al principio, luego aumentar la dosis hasta obtener una respuesta apropiada. La dosis administrada a un individuo es suficiente para lograr una respuesta terapéutica beneficiosa en el individuo a lo largo del tiempo o, por ejemplo, para reducir los síntomas u otra actividad apropiada, dependiendo de la aplicación. La dosis está determinada por la eficacia de la formulación particular y la actividad, estabilidad o semivida sérica de la composición y el estado del individuo, así como el peso corporal o el área de superficie del individuo que se va a tratar. El tamaño de la dosis también está determinado por la existencia, la naturaleza y el alcance de los efectos secundarios adversos que acompañan a la administración de un vector particular, formulación o similar en un individuo particular.

- 25 En algunas realizaciones, la unidad de dosificación para un compuesto de la presente invención puede ser aproximadamente 0.001 mg, aproximadamente 0.002 mg, aproximadamente 0.003 mg, aproximadamente 0.004 mg, aproximadamente 0.005 mg, aproximadamente 0.006 mg, aproximadamente 0.007 mg, aproximadamente 0.008 mg, aproximadamente 0.009 mg, aproximadamente 0.01 mg, aproximadamente 0.02 mg, aproximadamente 0.03 mg, aproximadamente 0.04 mg, aproximadamente 0.05 mg, aproximadamente 0.06 mg, aproximadamente 0.07 mg, aproximadamente 0.08 mg, aproximadamente 0.09 mg, aproximadamente 0.1 mg, aproximadamente 0.2 mg, aproximadamente 0.3 mg, aproximadamente 0.4 mg, aproximadamente 0.5 mg, aproximadamente 0.6 mg, aproximadamente 0.7 mg, aproximadamente 0.8 mg, aproximadamente 0.9 mg, aproximadamente 1 mg, aproximadamente 2 mg, aproximadamente 3 mg, aproximadamente 4 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 6 mg, aproximadamente 7 mg, aproximadamente 8 mg, aproximadamente 9 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 35 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 500 mg o más.

- 30 En algunas realizaciones, las dosis diarias de los compuestos de la presente invención serán por lo general de aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.002 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.003 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.004 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.005 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.006 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.007 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.008 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.009 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.01 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.02 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.03 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.04 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.05 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.06 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.07 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.08 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.09 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.2 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.3 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.4 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.5 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.6 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.7 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.8 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.9 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 2 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 4 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 6 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 7 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 8 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 9 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 15 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 35 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 45 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 70 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 80 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 90 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 400 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal o más.

corporal, aproximadamente 0.3 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.4 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.5 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.6 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.7 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.8 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0.9 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 2 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 4 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 6 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 7 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 8 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 9 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 15 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 35 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 45 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 70 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 80 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 90 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 400 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal o más. Se puede usar una dosis ya sea única o dividida.

En algunas realizaciones, la forma de dosificación de la presente invención es eficaz para proporcionar una concentración en plasma total máxima en dicho sujeto humano de no más de aproximadamente 1 pg/mL, aproximadamente 5 pg/mL, aproximadamente 10 pg/mL, aproximadamente 50 pg/mL, aproximadamente 100 pg/mL, aproximadamente 500 pg/mL, aproximadamente 1 ng/mL, aproximadamente 5 ng/mL, aproximadamente 10 ng/mL, aproximadamente 50 ng/mL, aproximadamente 100 ng/mL, aproximadamente 500 ng/mL, aproximadamente 1 µg/mL, aproximadamente 5 µg/mL, aproximadamente 10 µg/mL, aproximadamente 50 µg/mL, aproximadamente 100 µg/mL, aproximadamente 500 µg/mL, aproximadamente 1 mg/mL o más de equivalente de base libre del compuesto.

En un aspecto adicional de cualquiera de las formas de dosificación como se describe en este documento, la forma de dosificación es una forma de dosificación oral. En otro aspecto adicional, la forma de dosificación es una forma de dosificación intravenosa. La forma de dosificación es apropiada para la administración a un sujeto humano, particularmente para su uso en el tratamiento de cualquiera de los trastornos descritos en este documento. En algunas realizaciones, la forma de dosificación es una forma de dosificación subcutánea.

También se pueden usar composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos descritos en este documento en combinación con uno o más de otros agentes anticancerígenos. Dicho tratamiento en conjunto se puede lograr mediante la dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento.

En algunas realizaciones, los agentes anticancerígenos son quimioterapéuticos. En algunas realizaciones, los agentes quimioterapéuticos se seleccionan de agentes alquilantes, antimetabolitos, agentes antimicrotúbulos, inhibidores de topoisomerasa y antibióticos citotóxicos. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen paclitaxel (Taxol®), docetaxel (Taxotere®), cisplatino, carboplatino (Paraplatin®), clorhidrato de gemcitabina (Gemzar®), doxorubicina, etopósido (Etopophos®, Vepesid®), pemetrexed (Alimta®), topotecán (Hycamtin®), vinblastina (Velbe®), vindesina (Eldisine®), vinorelbina (Navelbine®), ifosfamida (Mitoxana®), mitomicina y gemcitabina. Estos agentes se pueden administrar en combinación, por ejemplo, vinorelbina y cisplatino o carboplatino; gemcitabina con cisplatino o carboplatino o paclitaxel; MIC (mitomicina, ifosfamida y cisplatino); MVP (mitomicina, vinblastina y cisplatino); y EC (etopósido y carboplatino). Los ejemplos de fármacos quimioterapéuticos útiles incluyen, pero no se limitan a, hidroxiurea, busulfano, cisplatino, carboplatino, clorambucilo, melfalan, ciclofosfamida, ifosfamida, danorrubicina, doxorubicina, epirubicina, mitoxantrona, vincristina, vinblastina, Navelbine® (vinorelbina), etopósido, tenipósido, paclitaxel, docetaxel, gemcitabina, citosina, arabinósido, bleomicina, neocarzinostatina, suramina, taxol y mitomicina C.

Como se usa en este documento, el término "agentes alquilantes" se refiere a agentes que tienen la capacidad de alquilar moléculas en un sujeto, incluidas proteínas, ARN y ADN. Ejemplos no limitantes de agentes alquilantes incluyen mostazas nitrogenadas, nitrosoureas, tetrazinas, aziridinas, cisplatinos y derivados, y agentes alquilantes no clásicos. Las mostazas nitrogenadas incluyen mecloretamina, ciclofosfamida, melfalan, clorambucilo, ifosfamida y busulfán. Las nitrosoureas incluyen N-Nitroso-N-metilurea (MNU), carmustina (BCNU), lomustina (CCNU) y semustina (MeCCNU), fotemustina y estreptozotocina. Las tetrazinas incluyen dacarbazina, mitozolomida y temozolomida. Las aziridinas incluyen tiotepa, mitomicina y diaziquona (AZQ). El cisplatino y sus derivados incluyen cisplatino, carboplatino y oxaliplatino. Altera la función celular al formar enlaces covalentes con los grupos amino, carboxilo, sulfhidrilo y fosfato en moléculas biológicamente importantes. [20] Los agentes alquilantes no clásicos incluyen procarbazona y hexametilmelamina.

Como se usa en este documento, el término "antimetabolitos" se refiere a una molécula que impide la síntesis de ADN, ARN o proteína. En algunas realizaciones, los antimetabolitos se parecen a nucleobases o nucleósidos (un nucleótido sin el grupo fosfato), pero tienen grupos químicos alterados. Estos fármacos ejercen su efecto bloqueando las enzimas requeridas para la síntesis de ADN o incorporándose en el ADN o el ARN. Al inhibir las enzimas implicadas en la síntesis de ADN, previenen la mitosis porque el ADN no puede duplicarse. Además,

después de una mala incorporación de las moléculas en el ADN, puede producirse daño en el ADN y se induce la muerte celular programada (apoptosis). En algunas realizaciones, los antimetabolitos son antifolatos, fluoropirimidinas, análogos de desoxinucleósidos y tiopurinas. En algunas realizaciones, los antimetabolitos se seleccionan de metotrexato, pemetrexed, fluorouracilo, capecitabina, citarabina, gemcitabina, decitabina, Vidaza, fludarabina, nelarabina, cladribina, clofarabina, pentostatina, tioguanina y mercaptopurina.

Como se usa en este documento, el término "agentes antimicrotúbulos" se refiere a productos químicos que bloquean la división celular evitando la función de los microtúbulos. Ejemplos representativos de tales agentes incluyen taxanos (por ejemplo, paclitaxel (discutido con más detalle a continuación) y docetaxel) (Schiff et al., *Nature* 277: 665-667, 1979; Long and Fairchild, *Cancer Research* 54: 4355-4361, 1994; Ringel and Horwitz, *J. Natl. Cancer Inst.* 83(4): 288-291, 1991; Pazdur et al., *Cancer Treat. Rev.* 19(4): 351-386, 1993), campotecina, mitoxantrona, eleuterobina (por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 5,473,057), sarcodictiinas (incluida la sarcodictiina A), epotilonas A y B (Bollag et al., *Cancer Research* 55: 2325-2333, 1995), discodermolida (ter Haar et al., *Biochemistry* 35: 243-250, 1996), óxido de deuterio (D₂O) (James and Lefebvre, *Genetics* 130(2): 305-314, 1992; Sollott et al., *J. Clin. Invest.* 95: 1869-1876, 1995), hexilenglicol (2-metil-2,4-pentanodiol) (Oka et al., *Cell Struct. Funct.* 16(2): 125-134, 1991), tubercidina (7-deazaadenosina) (Mooberry et al., *Cancer Lett.* 96 (2): 261-266, 1995), LY290181 (2-amino-4-(3-piridil)-4H-nafto (1,2-b) piran-3-cardonitrilo) (Panda et al., *J. Biol. Chem.* 272(12): 7681-7687, 1997; Wood et al., *Mol. Pharmacol.* 52(3): 437-444, 1997), fluoruro de aluminio (Song et al., *J. Cell. Sci. Suppl.* 14: 147-150, 1991), etilenglicol bis-(succinimidilsuccinato) (Caplow and Shanks, *J. Biol. Chem.* 265 (15): 8935-8941, 1990), éster etílico de glicina (Mejillano et al., *Biochemistry* 31(13): 3478-3483, 1992), nocodazol (Ding et al., *J. Exp. Med.* 171(3): 715-727, 1990; Dotti et al., *J. Cell Sci. Suppl.* 15: 75-84, 1991; Oka et al., *Cell Struct. Funct.* 16(2): 125-134, 1991; Weimer et al., *J. Cell. Biol.* 136(1), 71-80, 1997), citocalasina B (Illinger y col., *Biol. Cell* 73 (2-3): 131-138, 1991), colchicina y CI 980 (Allen et al., *Am. J. Physiol.* 261(4 Pt. 1): L315-L321, 1991; Ding et al., *J. Exp. Med.* 171(3): 715-727, 1990; Gonzalez et al., *Exp. Cell. Res.* 192(1): 10-15, 1991; Stargell et al., *Mol. Cell. Biol.* 12(4): 1443-1450, 1992; Garcia et al., *Anticancer Drugs* 6(4): 533-544, 1995), colcemid (Barlow et al., *Cell. Motil. Cytoskeleton* 19(1): 9-17, 1991; Meschini et al., *J. Microsc.* 176(Pt. 3): 204-210, 1994; Oka et al., *Cell Struct. Funct.* 16(2): 125-134, 1991), podofilotoxina (Ding et al., *J. Exp. Med.* 171(3): 715-727, 1990), benomyl (Hardwick et al., *J. Cell. Biol.* 131(3): 709-720, 1995; Shero et al., *Genes Dev.* 5(4): 549-560, 1991), orizalina (Stargell et al., *Mol. Cell. Biol.* 12(4): 1443-1450, 1992), majusculamida C (Moore, *J. Ind. Microbiol.* 16 (2): 134-143, 1996), demecolcina (Van Dolah and Ramsdell, *J. Cell. Physiol.* 166 (1): 49-56, 1996; Wiemer et al., *J. Cell. Biol.* 136 (1): 71-80, 1997), metil-2-bencimidazolcarbomato (MBC) (Brown et al., *J. Cell. Biol.* 123(2): 387-403, 1993), LY195448 (Barlow & Cabral, *Cell Motil. Cytoskel.* 19: 9-17, 1991), subtilisina (Saoudi et al., *J. Cell Sci.* 108: 357-367, 1995), 1069C85 (Raynaud et al., *Cancer Chemother Pharmacol.* 35: 169-173, 1994), esteganacina (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), combretastatinas (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), curacins (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), estradiol (Aizu-Yokata et al., *Carcinogen.* 15(9): 1875-1879, 1994), 2-metoxiestradiol (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), flavanoles (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), rotenona (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), griseofulvina (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), alcaloides de la vinca, incluida la vinblastina y vincristina (Ding et al., *J. Exp. Med.* 171(3): 715-727, 1990; Dirk et al., *Neurochem. Res.* 15(11): 1135-1139, 1990; Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996; Illinger et al., *Biol. Cell* 73(2-3): 131-138, 1991; Wiemer et al., *J. Cell. Biol.* 136(1): 71-80, 1997), maytansinoides y ansamitocinas (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), rizoxina (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), fomopsina A (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), ustiloxinas (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), dolastatina 10 (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), dolastatina 15 (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), halicondrinas y halistatinas (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), espongiestatinas (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), criptoficinas (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), razinilam (Hamel, *Med. Res. Rev.* 16(2): 207-231, 1996), betaína (Hashimoto et al., *Zool. Sci.* 1: 195-204, 1984), taurina (Hashimoto et al., *Zool. Sci.* 1: 195-204, 1984), isetionato (Hashimoto et al., *Zool. Sci.* 1: 195-204, 1984), HO-221 (Ando et al., *Cancer Chemother Pharmacol.* 37: 63-69, 1995), adociasulfato-2 (Sakowicz et al., *Science* 280: 292-295, 1998), estramustina (Panda et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 94: 10560-10564, 1997), anticuerpos monoclonales antiidiotípicos (Leu et al., *Proc. Acad. Sci. EE.UU.* 91(22): 10690-10694, 1994), proteína promotora del ensamblaje de microtúbulos (proteína tipo taxol, TALP) (Hwang et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 208(3): 1174-1180, 1995), hinchazón celular inducida por condiciones hipotónicas (190 mosmol/L), insulina (100 mmol/L) o glutamina (10 mmol/L) (Haussinger et al., *Biochem. Cell. Biol.* 72(1-2): 12-19, 1994), unión a dineína (Ohba et al., *Biochim. Biophys. Acta* 1158(3): 323-332, 1993), gibberelina (Mita and Shibaoka, *Protoplasma* 119(1/2): 100-109, 1984), XCHOI (proteína similar a la quinesina) (Yonetani et al., *Mol. Biol. Cell* 7(suppl): 211 A, 1996), ácido lisofosfatídico (Cook et al., *Mol. Biol. Cell* 6(suppl): 260A, 1995), ion litio (Bhattacharyya and Wolff, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 73(2): 383-390, 1976), componentes de la pared celular de la planta (por ejemplo, poli-L-lisina y extensina) (Akashi et al., *Planta* 182(3): 363-369, 1990), soluciones reguladoras de glicerol (Schilstra et al., *Biochem. J.* 277(Pt. 3): 839-847, 1991; Farrell and Keates, *Biochem. Cell. Biol.* 68(11): 1256-1261, 1990; Lopez et al., *J. Cell. Biochem.* 43(3): 281-291, 1990), solución reguladora estabilizante de microtúbulos Triton X-100 (Brown et al., *J. Cell Sci.* 104(Pt. 2): 339-352, 1993; Safiejko-Mroccka and Bell, *J. Histochem. Cytochem.* 44(6): 641-656, 1996), proteínas asociadas a microtúbulos (por ejemplo, MAP2, MAP4, tau, big tau, ensconsina, factor de elongación-1-alfa (EF-1 α) y E-MAP-115) (Burgess et al., *Cell Motil. Cytoskeleton* 20(4): 289-300, 1991; Saoudi et al., *J. Cell. Sci.* 108(Pt. 1): 357-367, 1995; Bulinski and Bossler, *J. Cell. Sci.* 107(Pt. 10): 2839-2849, 1994; Ookata et al., *J. Cell Biol.* 128(5): 849-862, 1995; Boyne et al., *J. Comp. Neurol.* 358(2): 279-293, 1995; Ferreira and Caceres, *J. Neurosci.* 11(2): 392-400, 1991; Thurston et al.,

Chromosoma 105(1):20-30, 1996; Wang et al., Brain Res. Mol. Brain Res. 38(2): 200-208, 1996; Moore and Cyr, Mol. Biol. Cell 7(suppl): 221-A, 1996; Masson and Kreis, J. Cell Biol. 123(2), 357-371, 1993), entidades celulares (por ejemplo, Histona H1, proteína básica de mielina y cinetocoros) (Saoudi et al., J. Cell. Sci. 108(Pt. 1): 357-367, 1995; Simerly et al., J. Cell Biol. 111(4): 1491-1504, 1990), estructuras microtubulares endógenas (por ejemplo, estructuras axonemales, tapones y tapas de GTP) (Dye et al., Cell Motil. Cytoskeleton 21(3): 171-186, 1992; Azhar and Murphy, Cell Motil. Cytoskeleton 15(3): 156-161, 1990; Walker et al., J. Cell Biol. 114(1): 73-81, 1991; Drechsel and Kirschner, Curr. Biol. 4(12): 1053-1061, 1994), polipéptido estable de un solo túbulo (por ejemplo, STOP145 y STOP220) (Pirollet et al., Biochim. Biophys. Acta 1160(1): 113-119, 1992; Pirollet et al., Biochemistry 31(37): 8849-8855, 1992; Bosc et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU 93(5): 2125-2130, 1996; Margolis et al., EMBO J. 9(12): 4095-4102, 1990) y la tensión de las fuerzas mitóticas (Nicklas and Ward, J. Cell Biol. 126(5): 1241-1253, 1994), así como cualquier análogo y derivado de cualquiera de los encima. Dichos compuestos pueden actuar despolimerizando microtúbulos (por ejemplo, colchicina y vinblastina) o estabilizando la formación de microtúbulos (por ejemplo, paclitaxel).

En algunas realizaciones, un agente antitumoral incluye inhibidores mitóticos, por ejemplo derivados alcaloides de la vinca tales como vinblastina, vinorelbina, vindescina y vincristina; colchinas alocolchicina, halicondrina, ácido N-benzotrimetilmetiléter, ácido colchicínico, dolastatina 10, maystansina, rizoxina, taxanos tales como taxol (paclitaxel), docetaxel (Taxotere), 2'-N- [3-(dimetilamino) propil] glutaramato (derivado de taxol), tiocolchicina, tritil cisteína, tenipósido, metotrexato, azatioprina, fluorouracilo, arabinósido de citocina, 2'-2'-difluorodeoxicitidina (gemcitabina), adriamicina y mitamicina. Agentes alquilantes, por ejemplo cis-platino, carboplatino oxiplatino, ioproplatino, éster etílico de N-acetil-DL-sarcosil-leucina (Asaley o Asalex), ácido 1,4-ciclohexadieno-1,4-dicarbámico, 2,5-bis (1-azirdinil)-3,6-dioxo-, dietil éster (diaziquona), 1,4-bis (metanosulfonilo) butano (bisulfán o leucosulfan) clorozotocina, clomesona, cianomorfolinodoxorrubicina, ciclodisona, dianhidroglactitol, fluorodopan, hepsulfam, mitomicina C, hicanteonemitomicina C, mitozolamida, 1-(2-cloroetil)-4-(3-cloropropil)-piperazina diclorhidrato, piperazinadiona, pipobromano, porfiromicina, espirohidantoína, mostaza, teroxirona, tetraplatino, tiotepa, trietilenometamina, uracilo mostaza nitrogenada, clorhidrato de bis (3-mesiloxipropil) amina, mitomicina, agentes de nitrosoureas tales como ciclohexil-cloroetilnitrosourea, metilciclohexilcloroetilnitrosourea 1-(2-cloroetil)-3-(2,6-dioxo-3-piperidil)-1-nitroso-urea, bis (2-cloroetil) nitrosourea, procarbazona, dacarbazina, compuestos relacionados con la mostaza nitrogenada tales como el mecloroetamina, ciclofosfamida, ifosamida, melfalan, clorambucilo, fosfato sódico de estramustina, estreptozoina y temozolamida. Antimetabolitos de ADN, por ejemplo 5-fluorouracilo, citosina arabinósido, hidroxiurea, 2- [(3hidroxi-2-pirinodinil)metileno]-hidrazinacarbotoamida, desoxifluorouridina, 5-hidroxi-2-formilpiridina tiosemicarbazona, alfa-2'-desoxi -tioguanosina, aphidicolina glicinato, 5-azadeoxicitidina, beta-tioguanina desoxirribosida, ciclocitidina, guanazol, inosina glicodialdehído, macbecina II, pirazolimadazol, cladribina, pentostatina, tioguanina, mercaptopurina, bleomicina, 2-clorodesoxiadenosina, inhibidores de la timidilato sintasa tales como raltitrexed y pemetrexed disódico, clofarabina, flouxuridina y fludarabina Antimetabolitos de ADN/ARN, por ejemplo, L-alanosina, 5-azacitidina, acivicina, aminopterina y derivados de los mismos como ácido N- [2-cloro-5-[[[(2,4-diamino-5-metil-6-quinazolinil) metil] amino] benzoil] -L-aspartico, ácido N- [4-[[[(2,4-diamino-5-etil-6-quinazolinil) metil] amino] benzoil] -L-aspartico, ácido N- [2 -cloro-4-[[[(2, 4-diaminopteridinil) metil] amino] benzoil] -L-aspartico, antifol de Baker soluble, dicloroalil lawsona, brequinar, floraf, dihidro-5-azacitidina, metotrexato, sal tetrasódica del ácido N-(fosfonoacetil)- L-aspartico, pirazofurano, trimetrexato, plicamicina, actinomicina D, criptoficina y análogos tales como la criptoficina-52 o, por ejemplo, uno de los antimetabolitos preferidos descritos en la Solicitud de Patente Europea No. 239362 tales como ácido N-(5- [N-(3,4-dihidro-2-metil-4-oxoquinazolin-6-ilmetil)-N-metilamino]-2-tenoil)-L-glutámico; inhibidores del factor de crecimiento; inhibidores del ciclo celular; antibióticos intercalantes, por ejemplo adriamicina y bleomicina; proteínas, por ejemplo interferón; y anti-hormonas, por ejemplo, anti-estrógenos como Nolvadex™ (tamoxifeno) o, por ejemplo, anti-andrógenos tales como Casodex™ (4'-ciano-3-(4-fluorofenilsulfonil)-2-hidroxi-2-metil-3'-(trifluorometil) propionanilida).

Como se usa en este documento, el término "inhibidores de topoisomerasa" se refiere a agentes que pueden modular la actividad de topoisomerasa I y/o topoisomerasa II. En algunas realizaciones, el inhibidor de topoisomerasa de esta divulgación puede ser un inhibidor de topoisomerasa I, que puede ser, en algunas realizaciones, un derivado de camptotecina. Un derivado de camptotecina de esta divulgación puede ser belotecán (CKD602), camptotecina, 7-etil-10-hidroxi-CPT, 10-hidroxi-CPT, rubitecán (9-Nitro-CPT), 7-etil-CPT, topotecán, irinotecán, silatecán (DB67) y cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones de esta divulgación, el inhibidor de topoisomerasa I puede ser un derivado de indenoisoquinolina, que puede ser NSC706744, NSC725776, NSC724998 y cualquier combinación de los mismos. En realizaciones adicionales de esta divulgación, el inhibidor de topoisomerasa es un inhibidor de topoisomerasa II, que en algunas realizaciones puede ser un derivado de acridina, que puede ser Amsacrina, en algunas realizaciones el inhibidor de topoisomerasa II puede ser un derivado de podofilotoxina, que puede ser etopósido, y en algunas realizaciones, el inhibidor de topoisomerasa II puede ser un derivado de bisdioxopiperazina, que puede ser ICRF-193, dextrazoxano (ICRF-187) y cualquier combinación de los mismos. En otras realizaciones adicionales de esta divulgación, el inhibidor de topoisomerasa puede ser Resveratrol (PMID: 20304553; PMID: 15796584)41, galato de epigallocatequina (PMID: 18293940; PMID: 11594758; PMID: 11558576; PMID: 1313232)42,43, Genisteína (PMID: 17458941)44, Daidzein (PMID: 17458941)45. Quercetina (PMID: 1313232; PMID: 16950806; PMID: 15312049), flavonas naturales relacionadas con la quercetina que inhiben la topoisomerasa, tales como acacetina, apigenina, kaempferol y morina (PMID: 8567688)46-48, luteolina (PMID: 12027807; PMID: 16950806; PMID: 15312049)46; Miricetina (PMID: 20025993)49 y cualquier combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, el inhibidor de topoisomerasa puede ser una molécula de ARN interferente (ARNi)

que se dirige a la topoisomerasa I, la topoisomerasa II o ambas. Los ejemplos no limitantes de moléculas de ARNi incluyen ARN interferente pequeño (ARNip), ARN de horquilla corta (ARNsh), microARN (miARN) y moléculas de ácido nucleico antisentido como se conocen bien en la técnica. En la tabla 2 se proporcionan ejemplos no limitantes de ARNip y ARNsh de esta divulgación. En algunas realizaciones, se puede emplear una nucleasa de dedo de zinc, un anticuerpo y/o una ribozima para inhibir la actividad de topoisomerasa en los métodos de esta divulgación.

Como se usa en este documento, el término "antibióticos citotóxicos" antibióticos citotóxicos incluye antinomina, bleomicina, mitomicina y plicamicina. Los ejemplos de inhibidores de la tirosina quinasa incluyen nilotinib, imatinib, gefitinib, erlotinib, cetuximab, panitumumab, zalutumumab, nimotuzumab y matuzuman.

En algunas realizaciones, los otros agentes anticancerígenos son anticuerpos monoclonales, tales como alemtuzumab, bevacizumab, cetuximab, gemtuzumab, rituximab y trastuzumab; fotosensibilizadores, tales como ácido aminolevulínico, metil aminolevulinato, porfímero de sodio y verteporfina; y otros agentes, como alitretinoína, altretamina, amsacrina, anagrelida, trióxido de arsénico, asparaginasa, bexaroteno, bortezomib, celecoxib, denileukin diftotox, erlotinib, estramustina, gefitinib, hidroxycarbamida, imatinib, pentostatina, masoprocol, mitotano, pegaspargase y tretinoína

En algunas realizaciones, los otros agentes anticancerígenos son aquellos que se pueden usar para tratar la leucemia, tales como fármacos para la leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML) y leucemia meníngea, incluyen abitrexato (metotrexato), adriamicina PFS (clorhidrato de doxorrubicina), adriamicina RDF (clorhidrato de doxorrubicina), arranón (nelarabina), asparaginasa Erwinia chrysanthemi, cerubidina (clorhidrato de daunorrubicina), clafen (ciclofosfamida), clofarabina, clofarex (clofarabina), clolar (clofarabina, ciclofosfamida, citarabina, Cytosar-U (citarabina), Cytoxan (ciclofosfamida), Dasatinib, clorhidrato de daunorrubicina, clorhidrato de doxorrubicina, Erwinaze (Asparaginase Erwinia Chrysanthemi), folex (metotrexato), folex PFS (metotrexato), Gleevec (mesilato de imatinib), Iclusig (clorhidrato de ponatinib), mesilato de imatinib, marqibo (liposoma de sulfato de vincristina), mercaptopurina, metotrexato, metotrexato LPF (mexatexato), Mexato (Metotrexato), Mexato-AQ (Metotrexato), Nelarabina, Neosar (Ciclofosfamida), Oncaspar (Pegaspargase), Pegaspargase, Purinethol (Mercaptopurina), rubidomicina (clorhidrato de daunorrubicina), Sprycel (Dasatinib), Tarabina PFS (citarabina), Vincasar PFS, sulfato de incristina, sulfato de vincristina, liposoma de sulfato de vincristina, hiper-CVAD, adriamicina PFS (clorhidrato de doxorrubicina), adriamicina RDF (clorhidrato de doxorrubicina), trióxido de arsénico, cerubidina (clorhidrato de caunorubicina), clafen (ciclofosfamida), ciclofosfamida, citarabina, citosar-U (citarabina), Citoxan (Ciclofosfamida), clorhidrato de daunorrubicina, clorhidrato de doxorrubicina, neosar (ciclofosfamida), rubidomicina (clorhidrato de daunorrubicina), tarabina PFS (citarabina), trisenox (trióxido de arsénico), vincasar PFS (sulfato de vincristina), sulfato de vincristina, ADE, alemtuzumab, amboclorina (clorambucilo), amboclorina (clorambucilo), arzerra (ofatumumab), bendamustina, clorhidrato, Campath (Alemtuzumab), Clorambucilo, Clafen (Ciclofosfamida), Ciclofosfamida, Citoxan (Ciclofosfamida), Fludara (Fosfato de fludarabina), Fosfato de fludarabina, Gazyva (Obinutuzb), Ibrutinib, Imbruvica (Ibrutinib), Leukeran (clorambucilo), linfolizina (clorambucilo), neosar (ciclofosfamida), obinutuzumab, ofatumumab, Treanda (clorhidrato de bendamustina), CLORAMBUCIL-PREDNISONA, CVP, Bosulif (Bosutinib), Bosutinib, Busulfan, Busulfex (Busulfan), Clafen (ciclofosfamida), ciclofosfamida, citarabina, cytosar-U (citarabina), cytoxan (ciclofosfamida), Dasatinib, Gleevec (mesilato de imatinib), Iclusig (clorhidrato de ponatinib), mesilato de imatinib, Myleran (Busulfan), Neosar (ciclofosfamida), nilotinib, mepesuccinato de omacetaxina, clorhidrato de ponatinib, Sprycel (Dasatinib), Synribo (mepesuccinato de omacetaxina), Tarabina PFS (citarabina), Tasigna (Nilotinib), citarabina, Cytosar-U (citarabina) y Tarabina PFS (citarabina).

En algunas realizaciones, los agentes anticancerígenos adicionales que se pueden usar junto con los compuestos de la presente invención incluyen agentes que pueden inhibir las respuestas de EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico), tales como anticuerpos EGFR, anticuerpos EGF y moléculas que son inhibidores de EGFR; inhibidores de VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular); e inhibidores del receptor erbB2, tales como moléculas orgánicas o anticuerpos que se unen al receptor erbB2. Los inhibidores de EGFR se describen, por ejemplo, en WO 95/19970, WO 98/14451, WO 98/02434 y la Patente de los Estados Unidos No. 5,747,498. Los agentes inhibidores de EGFR incluyen los anticuerpos monoclonales C225 y anti-EGFR 22Mab (ImClone Systems Incorporated of New York, N.Y., EE.UU.), los compuestos ZD-1839 (AstraZeneca), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), MDX-447 (Medarex Inc. of Annandale, N.J., EE.UU.), y OLX-103 (Merck & Co. of Whitehouse Station, N.J., EE.UU.), VRCTC-310 (Ventech Research) y toxina de fusión EGF (Seragen Inc. of Hopkinton, Mass.). Los inhibidores de VEGF, por ejemplo AG-13736 (Pfizer, Inc.), también se pueden combinar o administrar conjuntamente con la composición. Los inhibidores de VEGF se describen, por ejemplo, en los documentos WO 99/24440, WO 95/21613, WO 99/61422, la Patente de los Estados Unidos No. 5,834,504, WO 98/50356 (publicado Nov. 12, 1998), la Patente de los Estados Unidos No. 5,883,113, la Patente de los Estados Unidos No. 5,886,020, la Patente de los Estados Unidos No. 5,792,783, la Patente de los Estados Unidos No. 6,534,524, los documentos WO 99/10349, WO 97/32856, WO 97/22596, WO 98/54093, y WO 98/02437. Otros ejemplos de algunos inhibidores específicos de VEGF son IM862 (Cytran Inc. de Kirkland, Washington, EE. UU.); Avastin™ o bevacizumab, un anticuerpo monoclonal anti-VEGF (Genentech, Inc. de South San Francisco, California); y angiozima, una ribozima sintética de Ribozyme (Boulder, Colorado) y Chiron (Emeryville, California). Los inhibidores del receptor ErbB2, tales como GW-282974 (Glaxo Wellcome plc), y los anticuerpos monoclonales AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc. of The Woodlands, Tex., EE. UU.) Y 2B-1 (Chiron), se pueden administrar en combinación con la composición. Tales

inhibidores de erbB2 incluyen los descritos en los documentos WO 98/02434, WO 99/35146, WO 99/35132, WO 98/02437, WO 97/13760, WO 95/19970, la Patente de los Estados Unidos No. 5,587,458, y la Patente de los Estados Unidos No. 5,877,305.

- 5 En algunas realizaciones, se usa un programa de dosificación continua para el tratamiento. En algunas realizaciones, un compuesto de una forma de dosificación que comprende el compuesto de la presente invención se administra una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, o más veces al día, o continuamente durante un período de un día, o continuamente durante un día, en un programa diario, o cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, cada sexto día o cada semana. El tratamiento puede durar un período de tiempo determinado por los médicos, o hasta que las células cancerosas se inhiban completa o significativamente.
- 10 En algunas realizaciones, se usa un programa de dosificación intermitente para el tratamiento. Tal tratamiento es especialmente útil si existe un problema de toxicidad. En algunas realizaciones,

Los siguientes ejemplos ilustran varios aspectos de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1-Actividad antiproliferativa *in vitro* de LOR-253 en líneas celulares de leucemia, linfoma y mieloma múltiple

- 15 La actividad antiproliferativa de LOR-253 se determinó mediante ensayo XTT de la siguiente manera. Las células (4×10^3 /pocillo) en 100 μ L de medio de crecimiento se sembraron en placas de cultivo celular de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37 °C. El medio se retiró y se reemplazó con un volumen total de 100 μ L de medio de crecimiento que contenía LOR-253 (o control de vehículo DMSO al 0.1%), como se describe en los experimentos respectivos. Las células en suspensión se sembraron en placas ($4-6 \times 10^3$ /pocillo) en 50 μ L de medio de crecimiento, y se agregaron 50 μ L de medio de crecimiento que contenía LOR-253 (o control de vehículo DMSO al 0.1%) a cada pocillo. Después de la incubación de las células a 37 °C, durante 5 días, la viabilidad celular se cuantificó con el uso de ensayo colorimétrico de hidrato de ácido sodio 3'-[1-(fenilaminocarbonil)-3,4-tetrazolio]-bis (4-metoxi-6-nitro) bencenosulfónico (XTT) (Roche). El reactivo de marcado XTT (1 mg/mL) se mezcló con el reactivo de acoplamiento de electrones, siguiendo las instrucciones del fabricante, y se agregaron 50 μ L de la mezcla directamente a las células. Las placas se incubaron adicionalmente a 37 °C, durante 4 h, y la absorbancia de cada pocillo se midió a 490 nm con un espectrofotómetro de pocillos múltiples (Bio-Tek Instruments Inc.). Los datos se ajustaron en relación con el blanco y se expresaron como un porcentaje de crecimiento celular en comparación con el control del vehículo. (Ref. Huesca et al., Mol Cancer Ther. 2009. 8:2586-96; Lorus publication on LOR-133)
- 20
- 25

- 30 Los resultados del ensayo *in vitro* (Figura 3) indican que la leucemia/linfoma, incluidas las líneas celulares de AML, tales como HL-60, MV 411, THP-1, HEL92.1.7, CCRF-CEM, MOLT-4, Jurkat, K-562, Ramos, and Raji son las líneas celulares más sensibles a LOR-253, mientras que otras líneas celulares de cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, cáncer de colon, cáncer de próstata, melanoma y cáncer de mama son menos sensibles a LOR-253. La variabilidad en la sensibilidad a LOR-253 puede atribuirse al grado de supresión innata de KLF4. Los valores IC₅₀ de LOR-253 para cada línea celular de leucemia y linfoma se muestran a continuación.

Tipo de cáncer	línea celular	IC ₅₀ (μ M)
Leucemia mieloide aguda	Kasumi-1	0.0069
	KG-1	0.033
	HL-60	0.046
	EOL-1	0.058
	NB4	0.06
	MV-4-11	0.069
	OCI-AML2	0.076
	THP-1	0.077
	MOLM13 (CD47+)	0.13
	NOMO-1	0.121
	SKM-1	0.145
	HEL92.1.7	0.305

Leucemia linfoblástica aguda	CCRF-CEM	0.039
	MOLT-4	0.07
	Jurkat	0.071
Leucemia mielógena crónica	K562	0.25
Linfoma no Hodgkin	Ramos	0.125
	Raji	0.011
	CA46	0.19
	Toledo	0.077
	DB	0.099
	Mino	0.14
	RL	0.19
Mieloma múltiple	MM.1R	0.15
	U266B1	0.18
	HuNS1	0.072

Ejemplo 2-Inducción de KLF4/p21 en líneas celulares de AML *in vitro*

Para determinar si las expresiones KLF4 y/o p21 son inducidas por LOR-253, las células AML (THP1, HL-60) se trataron con DMSO (control del vehículo) o LOR-253 0.5 μ M, durante 16 horas. El ARN total se extrajo usando el kit de purificación de ARN TRIzol Plus (Ambion, Life Technologies), según las instrucciones del fabricante. La primera cadena de ADNc se sintetizó a partir de 1-2 μ g de ARN total, usando cebadores hexámeros aleatorios (Invitrogen) y el kit de transcriptasa inversa SuperScript II (Invitrogen). La RT-PCR cuantitativa se realizó en el sistema de detección de secuencia ABI Prism 7000 usando ADNc y conjuntos de cebadores/sondas del ensayo de expresión génica TaqMan humana para el factor 4 tipo Krüppel (KLF4), el inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (p21) y el protocolo de mezcla maestra de PCR ABI TaqMan Universal. La expresión génica se normalizó con la expresión del gen β -actina en la misma muestra, y los cambios de pliegue en KLF4 o p21 se expresaron en relación con el nivel de expresión correspondiente en las muestras tratadas con DMSO usando el método de CT comparativo. El tratamiento de las líneas celulares de AML THP1 y HL-60 con LOR-253 da como resultado una expresión aumentada de KLF4 y p21 (véase la figura 4).

Ejemplo 3: tratamiento con LOR-253 da como resultado la detención del ciclo celular G1/S en líneas celulares de AML.

Las líneas celulares de AML THP1 y HL-60 se trataron con DMSO (control de vehículo) o LOR-253 0.5 μ M durante 16 horas. Las células se lavaron una vez en PBS + FCS al 1% y se fijaron usando etanol al 70% enfriado durante la noche. Las células fijadas se lavaron dos veces, se resuspendieron en solución de PI/RNasa A, que contenía 20 μ g/mL de yoduro de propidio y 250 μ g/mL de RNasa A, y se tiñeron durante 30 minutos a 37 °C. Las células teñidas se analizaron usando un citómetro de flujo BD FACSCalibur. Los resultados indican que el tratamiento con LOR-253 da como resultado la detención del ciclo celular G1/S en líneas celulares de AML (Figura 5)

Ejemplo 4-El tratamiento con LOR-253 induce apoptosis en líneas celulares.

Las células THP-1 se trataron con DMSO, 0.5 o 1 μ M de LOR-253 durante 16 horas. Las células se lavaron dos veces con PBS frío y se resuspendió la solución reguladora de unión de anexina V. Se tiñeron 1×10^5 células en 100 μ L con FITC-Anexina V y yoduro de propidio, y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Después de la tinción, se agregaron 400 μ L de solución reguladora de unión y las células se mantuvieron en hielo hasta que se analizaron en un citómetro de flujo BD FACSCanto. Las células THP-1 tratadas con LOR-253 mostraron una elevada tinción de anexina V, lo que indica la inducción de apoptosis. El aumento de la concentración de LOR-253 usado para tratar las células dio como resultado un aumento en la población apoptótica temprana (Q3: anexina V+/PI-). Los resultados indican que el tratamiento con LOR-253 induce apoptosis en líneas celulares de AML (Figura 6).

Las células THP1 y HL-60 se trataron con DMSO (control del vehículo) o LOR-253 0.5 μ M durante 48 horas. Los lisados celulares se recogieron usando una lisis Triton-X100 al 1%. La actividad de la caspasa 3 se midió usando el

kit de ensayo No. 1 EnzChek caspasa-3 (Life Technologies) con 5 µg de lisados celulares según el protocolo del fabricante. El tratamiento de las células THP1 y HL-60 con LOR-253 da como resultado una actividad elevada de caspasa 3, lo que indica la inducción de apoptosis (Figura 7).

Las células THP1 se trataron con DMSO (control de vehículo) o LOR-253 0.5 µM durante 48 horas. El ARN total se extrajo usando el kit de purificación de ARN TRIzol Plus (Ambion, Life Technologies), según las instrucciones del fabricante. La primera cadena de ADNc se sintetizó a partir de 1-2 µg de ARN total usando cebadores hexámeros aleatorios (Invitrogen) y el kit de transcriptasa inversa SuperScript II (Invitrogen). La RT-PCR cuantitativa se realizó en el Sistema de Detección de Secuencia ABI Prism 7000 usando ADNc y conjuntos de cebadores/sondas del Ensayo de Expresión Génica TaqMan humana para proteína X asociada a BCL2 (BAX), CLL de células B/Linfoma 2 (BCL2) y el protocolo de mezcla maestra de PCR TaqMan ABI universal. La expresión génica se normalizó con la expresión génica de β-actina en la misma muestra, y los cambios de pliegue en BAX o BCL2 se expresaron en relación con el nivel de expresión correspondiente en las muestras tratadas con DMSO usando el método CT comparativo. La elevación de BAX y la represión de BCL2 tras el tratamiento de células THP1 con LOR-253 indica la inducción de apoptosis (Figura 8).

Ejemplo 5-Eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL en el modelo de xenoinjerto H226-Dosis y programa.

Los ratones modelo H226 se trataron según varios horarios de administración como se muestra en la tabla a continuación.

Grupo	Nivel de dosis	Horario de administración/ciclo (días)	Tratamiento (1 ciclo = 28 días)
1 n=8	10mg/kg-iv	2T-12B- 2T	2 ciclos
2 n=8	10mg/kg-iv	3T-12B-3T	2 ciclos
3 n=8	10mg/kg-iv	2T-5B-2T	2 ciclos
4 n=8	10mg/kg-iv	3T-5B-3T	2 ciclos
5 n=8	Vehículo solo	3T-5B-3T	2 ciclos
T= días consecutivos de tratamiento			
B= descanso para uno			

Los resultados muestran que los grupos 2, 3 y 4 son tratados eficazmente por LOR-253 (figura 9). Los resultados indican que el programa con una brecha de una semana es superior a la brecha de dos semanas, y sugiere que se prefiere un programa de administración semanal.

Ejemplo 6: respuestas farmacocinéticas (PK) y farmacodinámicas (PD) dependientes de la dosis *in vivo* en ratones desnudos Xenograft CD-1 tratados con LOR-253 HCL

Para estudiar la farmacocinética (PK) en células tumorales tratadas con LOR-253, los ratones desnudos CD-1 fueron tratados por inyecciones en bolo i.v de LOR-253 HCL a 1, 5 y 15 mg/kg. Se midió el nivel en suero de LOR-253. El resultado indica que el nivel en suero de LOR-253 tiene un aumento relacionado con la dosis (figura 10).

Para estudiar las respuestas farmacodinámicas (PD), los ratones fueron tratados durante 5 días consecutivos con 1, 5 y 15 mg/kg de LOR-253. Los tumores se midieron 16 horas después de la última dosis, y se midió el nivel de proteína KLF-4. Los niveles promedio de proteína KLF4 aumentaron de una manera dependiente de la dosis, correlacionando con la biodistribución tumoral y la actividad antitumoral de respuesta a la dosis (Figura 11).

Ejemplo 7-LOR-253 para el tratamiento de AML, ensayo clínico de fase I

Las pruebas preclínicas establecieron un índice terapéutico amplio para LOR-253: se demostró la eficacia de LOR-253 en modelos de xenoinjerto contra múltiples tipos de tumor; se realizaron estudios exhaustivos de seguridad GLP y PK en ratas y perros; no se observaron efectos cardiovasculares relacionados con el tratamiento en el estudio de toxicidad de dosis repetidas en perros con la dosis más alta probada (datos no mostrados); sin inhibición significativa de la densidad de corriente de cola hERG o enzimas CYP450; y los estudios de compatibilidad sanguínea GLP confirmaron la idoneidad de la formulación IV.

Fase I: Este fue un estudio abierto de fase 1 para determinar la dosis máxima tolerada (MTD) o la dosis diana apropiada si no se alcanza la MTD para identificar la dosis recomendada de fase 2 de LOR-253 HCL en pacientes con niveles avanzados o tumores sólidos metastásicos. En el primer conjunto de dosis, se administró LOR-253 HCL en dosis ascendentes hasta alcanzar la dosis máxima administrada o la dosis diana apropiada. En el otro conjunto

de dosis, se administró LOR-253 HCl en dosis ascendentes a partir de 20 mg/m² hasta alcanzar la dosis máxima administrada o la dosis diana apropiada. Paciente tratado con LOR-253 HCl durante 2 ciclos para la evaluación.

Otro nombre: no se usan otros nombres.

Tipo de estudio: intervencionista

Diseño del estudio: Clasificación del punto final: Modelo de intervención en estudio de seguridad: Enmascaramiento de asignación de grupo único: Etiqueta abierta Propósito principal: Tratamiento

Título oficial: Estudio abierto, Fase 1, Estudio de LOR-253 HCl en pacientes con tumores sólidos avanzados o metastásicos

Medidas de resultado primarias:

- 5 • Determinar la dosis máxima tolerada (MTD) o la dosis diana apropiada si no se alcanza la MTD para identificar la dosis recomendada de fase 2 de LOR-253 HCl en pacientes con tumores sólidos avanzados o metastásicos. [Marco de tiempo: 8 semanas]

Medidas de resultado secundarias:

- Caracterizar el perfil de seguridad de LOR-253 HCl cuando se administra a pacientes con tumores sólidos avanzados o metastásicos. [Marco de tiempo: 8 semanas]

10 Criterios de inclusión:

1. Hombre o mujer de 18 años de edad o más.
2. Diagnóstico confirmado histológicamente de un tumor sólido para el cual no hay una terapia eficaz disponible o que no responde a la terapia convencional.
3. Cumplir con los requisitos de parámetros de laboratorio al ingresar al estudio.

15 Criterio de exclusión:

1. Quimioterapia, radioterapia, terapia biológica, inmunoterapia o cualquier otro fármaco en investigación dentro de los 21 días de comenzar el tratamiento del estudio con LOR-253 HCl.
2. Una neoplasia maligna hematológica.
3. Una historia de metástasis cerebrales u otras del sistema nervioso central.
4. Tener presencia de una infección significativa.
5. Enfermedad autoinmune clínicamente significativa.
6. Enfermedad intercurrente no controlada.
7. Con síndromes de sobrecarga de hierro o cobre.
8. Embarazo o lactancia.

25 Seguridad y actividad antitumoral demostrada en el ensayo de fase I:

- Estudio de aumento de dosis en pacientes con tumores sólidos avanzados
- Perfil de seguridad excelente (N = 27 pacientes) en 7 niveles de dosis
- AE y SAE más comunes: fatiga y 1 caso de hipofosfatemia reversible
- Enfermedad estable lograda en el 41% de los pacientes evaluables; No RECIST PR

30 • Contracción tumoral (figura 12) en pacientes con NSCLC (adenocarcinoma mal diferenciado) y metástasis extensas refractarias a terapias estándar y de investigación previas.

Los resultados del ensayo de fase I demostraron que LOR-253 es un fármaco seguro y activo para tratar tumores sólidos.

Ejemplo 8-Actividad antiproliferativa *in vitro* de LOR-253 en síndromes mielodisplásicos (MDS), leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia de células T adultas (ATLL), linfoma, cáncer gástrico y múltiple líneas celulares de mieloma.

5 La actividad antiproliferativa de LOR-253 en MDS, ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y líneas celulares de mieloma múltiple se determina mediante el ensayo XTT como se describe en el ejemplo 1.

10 Las líneas celulares de MDS probadas en el ensayo incluyen TER-3 (Mishima et al., New human myelodysplastic cell line, TER- 3: G-CSF specific downregulation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase IV, J Cell Physiol. 2002 May;191(2):183-90), MDS92 (Tohyama et al., A novel factor-dependent human myelodysplastic cell line, MDS92, contains haemopoietic cells of several lineages, Br J Haematol. 1995 Dec;91(4):795-9), y SKM-1 (Kimura et al., Antiproliferative and Antitumor Effects of Azacitidine Against the Human Myelodysplastic Syndrome Cell Line SKM-1, Anticancer Research 32:795-798, 2002).

15 Las líneas celulares de ALL probadas en el ensayo incluyen CCRF-CEM (Foley et al., Continuous culture of human lymphoblasts from peripheral blood of a child with acute leukemia. Cancer 1965 18:522-529), MOLT-4 (Minowada et al., Rosetteforming human lymphoid cell lines. I. Establishment and evidence for origin of thymus-derived lymphocytes. Journal of the National Cancer Institute 1972 49 (3): 891-895), y Jurkat (Schneider et al., Characterization of EBV-genome negative "null" and "T" cell lines derived from children with acute lymphoblastic leukemia and leukemic transformed non- Hodgkin lymphoma. Int J Cancer. 1977 May 15;19(5):621-6).

Las líneas celulares de CML probadas en el ensayo incluyen K562 (Drexler, Leukemia cell lines: *in vitro* models for the study of chronic myeloid leukemia. Leuk Res. 1994 Dec;18(12):919-27).

20 Las líneas celulares de linfoma probadas en el ensayo incluyen Ramos, Raji, CA46, Toledo, DB, Mino, y RL.

25 Las líneas celulares de cáncer gástrico probadas en el ensayo incluyen AGS (ATCC No. de acceso CRL-1739TM), SNU-1 (ATCC No. de acceso CRL-5971TM), SNU-5 (ATCC No. de acceso CRL-5973TM), SNU-16 (ATCC No. de acceso CRL- 5974TM), Hs 746T (ATCC No. de acceso HTB-135TM), NCI-N87 (N87; ATCC No. de acceso CRL-5822TM), KATO III (ATCC No. de acceso HTB-103TM), SNU-520, SNU-719, NUGC-4, SKM-2, MKN-45, MKN-74, 20M, AKG, ECC4, G42LATE, GCIY, GCIY, GT3TKB, H-111, H-162, H-30, H-55, HGC-27, HSC-39, HUG-IN, JR1, KWS, MKN-1, MKN-28, MKN-7, MKN-74, MKN-74, MKN-74, NCI-N87, NUGC-3, OKAJIMA, SK-GT-1, SK-GT-2, SK-GT-5, SNU-16, SNU-216, SNU-484, SNU-55, SNU-601, SNU-638, SNU-668, TGBC11TKB, TGBC11TKB, TMK-1, y YCC-3

30 Las líneas celulares de mieloma múltiple probadas en el ensayo incluyen HMCL descritas en Lombardi et al. (Molecular characterization of human multiple myeloma cell lines by integrative genomics: insights into the biology of the disease. Genes Chromosomes Cancer. 2007 Mar;46(3):226-38.), XGs, NANs, BCN, MDN, SBN HMCLs, U266, RPMI8226, RPMI1640, ANBL-6, KMS-11, KMS12-BM, KMS12-PE, KMM1, LP1, L363, OPM2, NCI-H929, JIM3, MO-1, LP1, L363, NCIH929, OPM2, UHKT-89, SKMM2, U266B1 (Nilsson et al., Established immunoglobulin producing myeloma (IgE) and lymphoblastoid (IgG) cell lines from an IgE myeloma patient. Clin Exp Immunol. 1970 Oct;7(4):477-89), MM.1R (Greenstein et al., Characterization of the MM.1 human multiple myeloma (MM) cell lines: a model system to elucidate the characteristics, behavior, and signaling of steroid-sensitive and -resistant MM cells. Exp Hematol. 2003 Apr;31(4):271-82), y HuNS1 (Winkelhake, Myelomas for producing human/human hybridomas. US Patent 4,720,459 dated Jan 19 1988).

40 Los resultados del ensayo *in vitro* indican que una o más líneas celulares de MDS, ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico o líneas celulares de mieloma múltiple son sensibles a LOR-253.

Ejemplo 9-Inducción de KLF4/p21 en síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y líneas celulares de mieloma múltiple *in vitro*.

45 Para determinar si las expresiones KLF4 y/o p21 son inducidas por LOR-253, los síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y las líneas celulares de mieloma múltiple descritas en el ejemplo 8 se tratan con DMSO (control del vehículo) o 0.1, 0.2, 0.5 o 1 μ M de LOR-253 durante 16 horas. El ARN total se extrae usando el kit de purificación de ARN TRIzol Plus (Ambion, Life Technologies), según las instrucciones del fabricante. La primera cadena del ADNc se sintetiza a partir de 1-2 μ g de ARN total usando cebadores hexámeros aleatorios (Invitrogen) y el kit de transcriptasa inversa SuperScript II (Invitrogen). La RT-PCR cuantitativa se realiza en el sistema de detección de secuencia ABI Prism 7000 usando ADNc y conjuntos de cebadores/sondas del ensayo de expresión génica TaqMan humana para el factor 4 tipo Krüppel (KLF4), el inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (p21) y el protocolo de mezcla maestra de PCR ABI TaqMan Universal. La expresión génica se normaliza con la expresión génica de β -actina en la misma muestra, y los cambios de pliegue en KLF4 o p21 se expresan en relación con el nivel de expresión correspondiente en las muestras tratadas con DMSO usando el método CT comparativo. El tratamiento de uno o más síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico o líneas celulares de mieloma múltiple con LOR-253 da como resultado una mayor expresión de KLF4 y/o p21.

Ejemplo 10: Tratamiento con LOR-253 produce la detención del ciclo celular G1/S en síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y líneas celulares de mieloma múltiple.

Los síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y líneas celulares de mieloma múltiple descritas en el ejemplo 8 se tratan con DMSO (control de vehículo) o 0.1, 0.2, 0.5 o 1 μ M de LOR-253 durante 16 horas. Las células se lavan una vez en PBS + FCS al 1% y se fijan usando etanol al 70% enfriado durante la noche. Las células fijas se lavan dos veces, se resuspenden en solución de PI/RNasa A, que contiene 20 μ g/mL de yoduro de propidio y 250 μ g/mL de RNasa A, y se tiñen durante 30 minutos a 37 °C. Las células teñidas se analizan usando un citómetro de flujo BD FACSCalibur. Los resultados indican que el tratamiento con LOR-253 produce la detención del ciclo celular G1/S en uno o más síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico o líneas celulares de mieloma múltiple.

Ejemplo 11- Tratamiento con LOR-253 induce apoptosis en síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y líneas celulares de mieloma múltiple.

Los síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y líneas celulares de mieloma múltiple descritas en el ejemplo 8 se tratan con DMSO, 0.1, 0.2, 0.5 o 1 μ M de LOR-253 durante 16 horas. Las células se lavan dos veces con PBS frío y solución reguladora de unión anexina V resuspendido. Se tiñen 1×10^5 células en 100 μ L con FITC-Anexina V y yoduro de propidio, y se incuban durante 15 minutos a temperatura ambiente. Después de la tinción, se añaden 400 μ L de solución reguladora de unión y las células se mantienen en hielo hasta que se analizan en un citómetro de flujo BD FACSCanto. Una o más líneas celulares tratadas con LOR-253 muestran una elevada tinción de anexina V, lo que indica la inducción de apoptosis. El aumento de la concentración de LOR-253 usado para tratar las células da como resultado un aumento en la población apoptótica temprana (Q3: anexina V +/PI-).

Las líneas celulares también se tratan con DMSO (control de vehículo) o LOR-253 0.1, 0.2, 0.5 o 1 μ M durante 48 horas. Los lisados celulares se recogen usando una lisis Triton-X100 al 1%. La actividad de caspasa 3 se mide usando el kit de ensayo EnzChek caspasa-3 # 1 (Life Technologies) con 5 μ g de lisados celulares según el protocolo del fabricante. El tratamiento de una o más líneas celulares con LOR-253 da como resultado una actividad elevada de caspasa 3, lo que indica la inducción de apoptosis.

El ARN total de las líneas celulares tratadas se extrae usando el kit de purificación de ARN TRIzol Plus (Ambion, Life Technologies), según las instrucciones del fabricante. La primera cadena de ADNc se sintetiza a partir de 1-2 μ g de ARN total usando cebadores hexámeros aleatorios (Invitrogen) y el kit de transcriptasa inversa SuperScript II (Invitrogen). El RT-PCR cuantitativo se realiza en el sistema de detección de secuencia ABI Prism 7000 usando ADNc y conjuntos de cebadores/sondas de ensayo de expresión génica TaqMan humana para proteína X asociada a BCL2 (BAX), CLL de células B/linfoma 2

(BCL2) y el protocolo de mezcla maestra de PCR ABI TaqMan Universal. La expresión génica se normaliza con la expresión génica de β -actina en la misma muestra, y los cambios de pliegue en BAX o BCL2 se expresan en relación con el nivel de expresión correspondiente en las muestras tratadas con DMSO usando el método CT comparativo. La elevación de BAX y la represión de BCL2 tras el tratamiento de uno o más síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico o líneas celulares de mieloma múltiple con LOR-253 indica la inducción de apoptosis.

Ejemplo 12: eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL en el modelo de xenoinjerto de síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y mieloma múltiple

Los ratones modelo de síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y mieloma múltiple se crean según procedimientos estándar. Los ratones modelo se tratan según varios programas de administración como se muestra en la tabla a continuación.

Grupo	Nivel de dosis	Horario de administración/ciclo	tratamiento (1 ciclo = 7, 14, 21 o 28 días)
1 n=8	1mg/kg-iv	2T-12B- 2T	1, 2, 3, o 4 ciclos
2 n=8	1mg/kg-iv	3T-12B-3T	1, 2, 3, o 4 ciclos
3 n=8	1mg/kg-iv	2T-5B-2T	1, 2, 3, o 4 ciclos
4 n=8	1mg/kg-iv	3T-5B-3T	1, 2, 3, o 4 ciclos
5 n=8	5mg/kg-iv	2T-12B- 2T	1, 2, 3, o 4 ciclos
6 n=8	5mg/kg-iv	3T-12B-3T	1, 2, 3, o 4 ciclos
7 n=8	5mg/kg-iv	2T-5B-2T	1, 2, 3, o 4 ciclos

8	n=8	5mg/kg-iv	3T-5B-3T	1, 2, 3, o 4 ciclos
9	n=8	10mg/kg-iv	2T-12B- 2T	1, 2, 3, o 4 ciclos
10	n=8	10mg/kg-iv	3T-12B-3T	1, 2, 3, o 4 ciclos
11	n=8	10mg/kg-iv	2T-5B-2T	1, 2, 3, o 4 ciclos
12	n=8	10mg/kg-iv	3T-5B-3T	1, 2, 3, o 4 ciclos
13	n=8	20mg/kg-iv	2T-12B- 2T	1, 2, 3, o 4 ciclos
14	n=8	20mg/kg-iv	3T-12B-3T	1, 2, 3, o 4 ciclos
15	n=8	20mg/kg-iv	2T-5B-2T	1, 2, 3, o 4 ciclos
16	n=8	20mg/kg-iv	3T-5B-3T	1, 2, 3, o 4 ciclos
17	n=8	Vehículo solo	3T-5B-3T	1, 2, 3, o 4 ciclos
T= días consecutivos de tratamiento				
B= descanso para uno				

Los resultados muestran que uno o más grupos son tratados efectivamente por LOR-253.

Ejemplo 13: respuestas farmacocinéticas (PK) y farmacodinámicas (PD) dependientes de la dosis en ratones modelo Xenograft tratados con LOR-253 HCL con síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y mieloma múltiple

Para estudiar la farmacocinética (PK) en los síndromes mielodisplásicos (MDS), ALL, CML, ATLL, linfoma, cáncer gástrico y células tumorales de mieloma múltiple tratadas con LOR-253, los ratones desnudos CD-1 se tratan con inyecciones en bolo i.v. de LOR-253 HCl a 1, 5 y 15 mg/kg. Se mide el nivel en suero de LOR-253 en cada tratamiento.

Para estudiar las respuestas farmacodinámicas (PD), los ratones se tratan durante 5 días consecutivos con 1, 5 y 15 mg/kg de LOR-253. Los tumores se miden 16 horas después de la última dosis, y se mide el nivel de proteína KLF-4. Estos resultados muestran que los niveles promedio de proteína KLF4 en uno o más tratamientos aumentan de manera dependiente de la dosis, correlacionando con la biodistribución tumoral y la actividad antitumoral de dosis-respuesta.

Ejemplo 14-Eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL en un modelo de xenoinjerto de AML Kasumi-1

La actividad antitumoral de LOR-253 HCl se evaluó en otro modelo animal *in vivo* de AML humana. La línea celular de AML humana Kasumi-1 se implantó por vía subcutánea en ratones atímicos desnudos. Algunos ratones portadores de tumores fueron tratados con LOR-253 HCl a 30 mg/kg (15 mg/kg dos veces al día) durante dos días consecutivos por semana durante cuatro semanas (el "grupo de tratamiento LOR-253"). LOR-253 se administró por inyección intravenosa (i.v.) en bolo como la forma de sal clorhídrica (LOR-253-HCl) formulada en 20% de Polietilenglicol 400, 10% de Propilenglicol y 10% de Solutol HS en 60% de agua. Otros ratones portadores de tumor fueron tratados con una formulación que no tenía LOR-253 (el "grupo de control del vehículo").

El objetivo principal fue observar la inhibición del crecimiento tumoral después del tratamiento con LOR-253 HCl y comparar los efectos antitumorales de diferentes horarios de dosificación. Los tamaños de los tumores se midieron tres veces por semana desde el día 10 después de la inoculación de las células tumorales. Los tumores se midieron en tres dimensiones usando calibradores y el volumen se expresó en milímetros en cubos usando la fórmula: $V = 0.5 \times a \times b \times c$, donde a, b y c son la longitud, el ancho y la altura del tumor, respectivamente. Los volúmenes tumorales medios +/- error estándar (SE) se calcularon a partir de cada medición y luego se trazaron en un gráfico estándar para comparar la eficacia antitumoral del tratamiento farmacológico con la del control (Figura 15). La toxicidad se evaluó mediante observaciones clínicas y mediante la medición del peso corporal del ratón en gramos dos veces por semana durante el transcurso del estudio. Los pesos corporales medios se calcularon a partir de cada medición y luego se representaron gráficamente para comparar los cambios de peso corporal en el grupo de tratamiento farmacológico con el del control (Figura 16).

Los resultados de inhibición tumoral como se muestra en la figura 15 demuestran que el grupo de tratamiento LOR-253 produjo un efecto inhibitor estadísticamente aumentado significativamente en este modelo en comparación con el grupo de control del vehículo ($p = 0.028$ por la prueba t de Student). Además, los resultados de toxicidad como se

muestra en la figura 16 demuestran que los ratones en el grupo de tratamiento no mostraron pérdida de peso corporal. Los ratones en el grupo de tratamiento tampoco mostraron otros signos evidentes de toxicidad. Estos resultados indican que este programa de tratamiento fue bien tolerado. El LOR-253 HCl mostró una inhibición significativa del crecimiento tumoral como agente único a dosificaciones por semana sin signos evidentes de toxicidad, lo que sugiere que el LOR-253 HCl tiene una ventana terapéutica suficiente y que este agente es un agente quimioterapéutico potencial para el tratamiento de la AML.

Ejemplo 15-Eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL en un modelo de xenoinjerto AML HL-60

La actividad antitumoral del LOR-253 HCl, como agente único y en combinación con azacitidina, se evaluó en otro modelo animal *in vivo* de AML humana. La línea celular de AML humana HL-60 se implantó por vía subcutánea en ratones atímicos desnudos. Los ratones portadores de tumor se trataron con LOR-253 HCl solo o en combinación con azacitidina, con azacitidina sola o con un vehículo de control negativo. Las condiciones de tratamiento detalladas son las siguientes.

- Grupo 1: Grupo de control negativo. Vehículo de control de LOR-253 HCl, 2X/día, 3 ciclos de 2 días consecutivos, 5 días entre ciclos, i.v., más 1% de D-manitol cada cuatro días por inyección s.c.
- Grupo 2: azacitidina (en 1% de D-manitol) a 10 mg/kg 1X los días 1, 4, 8, 11, 15 y 18 por inyección subcutánea (s.c.)
- Grupo 3: LOR-253 HCl a 15 mg/kg oferta por 3 ciclos, cada ciclo es de 2 días consecutivos de dosificación por semana con 5 días de no dosificación, i.v., n = 9 (2T-5B)
- Grupo 4: LOR-253 HCl a 15 mg/kg 2X/día (oferta) durante 3 ciclos, cada ciclo es 1 día de dosificación por semana con 6 días sin dosificación, i.v., n = 9 (1T-6B)
- Grupo 5: Combinación de LOR-253 (2T-5B) y azacitidina. LOR-253 HCl a 15 mg/kg bid, durante 3 ciclos, cada ciclo es de 2 días consecutivos de dosificación por semana con 5 días de no dosificación, iv, n = 9 (2T-5B) más azacitidina a 10 mg/kg IX cada cuatro días por inyección s.c.
- Grupo 6: Combinación de LOR-253 (1T-6B) y azacitidina. LOR-253 HCl a 15 mg/kg oferta por 3 ciclos, cada ciclo es 1 día de dosificación por semana con 6 días de no dosificación, iv, n = 9 (1T-6B) más azacitidina a 10 mg/kg IX cada cuatro días por inyección sc

El objetivo principal fue observar la inhibición del crecimiento tumoral después del tratamiento con LOR-253 HCl en combinación con azacitidina. Los tamaños de los tumores se midieron tres veces por semana. Los tumores se midieron en tres dimensiones usando calibradores y el volumen se expresó en milímetros en cubos usando la fórmula: $V = 0.5 \times a \times b \times c$, donde a, b y c son la longitud, el ancho y la altura del tumor, respectivamente. Los volúmenes tumorales medios $\pm$ error estándar (SE) se calcularon a partir de cada medición y luego se trazaron en un gráfico estándar para comparar la eficacia antitumoral del tratamiento farmacológico con la del control (Figura 17).

Los resultados de inhibición tumoral como se muestra en la figura 17 demuestran que el LOR-253 HCl administrado solo a 15 mg/kg dos veces al día durante uno (Grupo 4) o dos (Grupo 3) días consecutivos por semana inhibió el crecimiento de los tumores HL-60 aproximadamente en la misma medida o un poco más que la azacitidina sola. La dosificación semanal una y dos veces de LOR-253 HCl en combinación con azacitidina (Grupo 6 y Grupo 5, respectivamente) dio como resultado niveles significativamente más altos de inhibición del crecimiento tumoral en comparación con cualquier agente único solo ($p = 0.0002$ y $p = 0.0006$ para 1X y Tratamiento 2X LOR-253 HCl, respectivamente; en comparación con el control, según lo determinado por la prueba t de Student). La figura 18 y la figura 19 muestran los datos del tamaño del tumor de animales individuales al principio (día 1) y al final (día 19) de este estudio.

Debido a que el LOR-253 HCl en combinación con la azacitidina dio como resultado niveles aún más altos de inhibición del crecimiento tumoral que cualquiera de los agentes individuales solos, el LOR-253 HCl también puede proporcionar eficacia anticancerígena aditiva a un estándar de cuidado quimioterapéutico para neoplasias malignas hematológicas.

Ejemplo 16-Eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL en un modelo de xenoinjerto de AML KG-1

La actividad antitumoral del LOR-253 HCl se evaluó en otro modelo animal *in vivo* de AML humana. Se generaron ratones modelo de xenoinjerto para la línea celular AML KG-1 con el mismo método que en los ejemplos 14 y 15, y se trataron con LOR-253 HCl o control según el siguiente régimen.

Control -IV-Día 1

LOR-253-15mg/kg-iv,bid,2T/sem-Día 1

Control-IV-Día 8

LOR-253- 15 mg/kg-iv,bid,2T/sem- Día 8

5 Control-IV- Día 13

LOR-253-15mg/kg-iv,bid,2T/sem- Día 13

Control-IV- Día 16

LOR-253-15mg/kg-iv,bid,2T/sem- Día 16

Control-IV- Día 20

10 LOR-253-15mg/kg-iv,bid,2T/sem- Día 20

Control-IV- Día 26

LOR-253-15mg/kg-iv,bid,2T/sem- Día 26

Los tamaños de los tumores se midieron como se describe en los ejemplos 14 y 15, y los resultados se muestran en la figura 20. LOR-253 HCl también mostró una inhibición significativa del crecimiento tumoral como agente único en este modelo animal de AML.

15

Ejemplo 17-Eficacia *in vivo* de LOR-253 HCL en un modelo de xenoinjerto AML THP-1

La actividad antitumoral del LOR-253 HCl, como agente único y en combinación con azacitidina, se evaluó en otro modelo animal *in vivo* de AML humana. Se generaron ratones modelo de xenoinjerto para la línea celular AML THP-1 con el mismo método que en los ejemplos 14 y 15, y se trataron con LOR-253 HCl solo o en combinación con azacitidina, con azacitidina sola, o con un vehículo de control negativo, y los tamaños tumorales se midieron como se describe en los ejemplos 14 y 15. Las condiciones de tratamiento detalladas se muestran a continuación, y los resultados se muestran en la figura 21)

20

Control del Grupo 1: recibido i.v. tratamientos con el vehículo de control (CV) LOR-253 en los días 1, 2, 8, 9, 15 y 16; recibió tratamientos subcutáneos (SC) con vehículo de control de azacitidina en los días 1,4,8,11,15,18,22,25,29 y 32; y recibió tratamientos intraperitoneales (IP) con LOR-253-CV en los días 22, 23, 24, 25, 29 y 30.

25

Grupo-2- LOR-253: recibió tratamientos i.v. en los días 1, 2, 8, 9, 15 y 16; recibió tratamientos de IP los días 22,23,24,25, 29 y 30

Grupo-3-Azacitidina: recibió tratamientos SC en los días 1,4,8,11,15,18,22,25,29 y 32.

Grupo-4-Combinación: recibida i.v. tratamientos con LOR-253 los días 1,2,8,9,15 y 16; recibió tratamientos IP con LOR-253 los días 22, 23, 24 y 25; y recibió tratamiento SC con azacitidina en los días 1,4,8,11,15,18,22 y 25

30

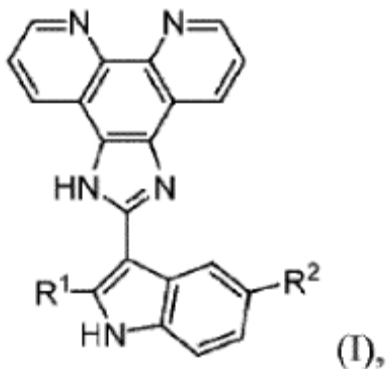
Los resultados de inhibición tumoral de este ejemplo demuestran que el LOR-253 HCl administrado solo inhibió el crecimiento de tumores THP-1 en aproximadamente el mismo grado o un poco más que la azacitidina sola. Cuando se usa en combinación con azacitadina, LOR-253 HCl nuevamente dio como resultado niveles significativamente más altos de inhibición del crecimiento tumoral.

35

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos en este documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en el arte a la que pertenece esta invención.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para su uso en el tratamiento de un síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto humano, que comprende administrar a un sujeto humano que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz del compuesto o una sal o solvato farmacológicamente aceptable del mismo, teniendo dicho compuesto la fórmula I:



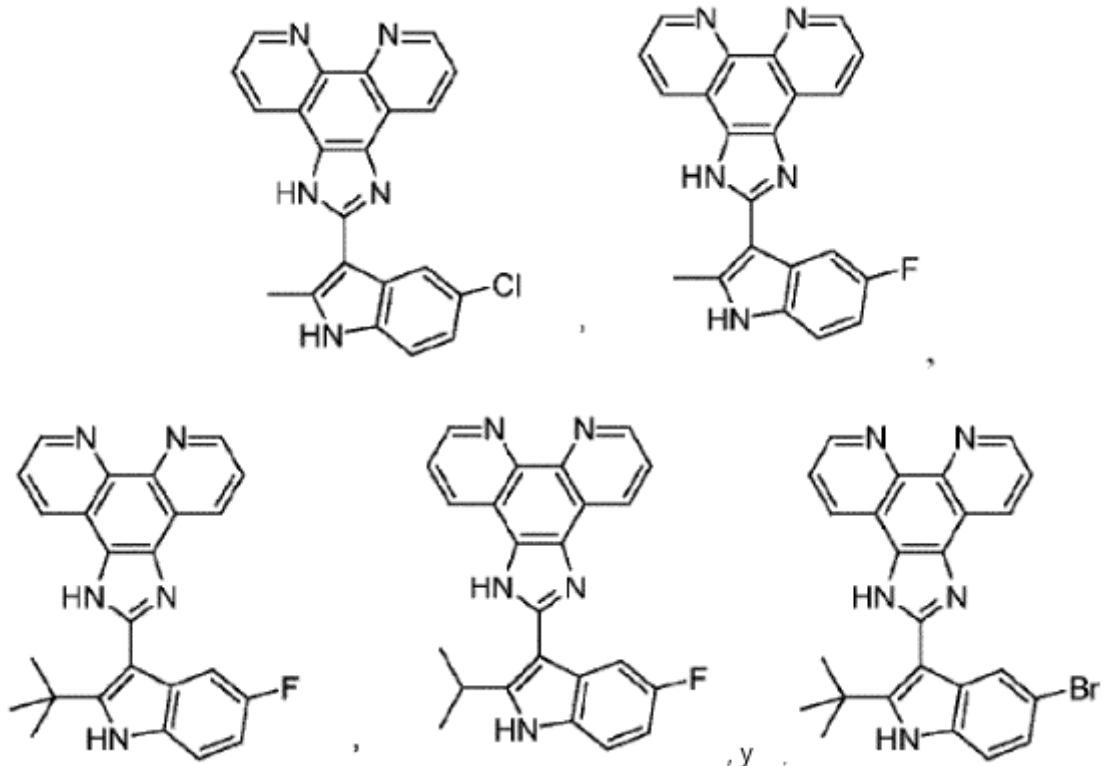
en la que

R¹ es alquilo C₁-C₄; y

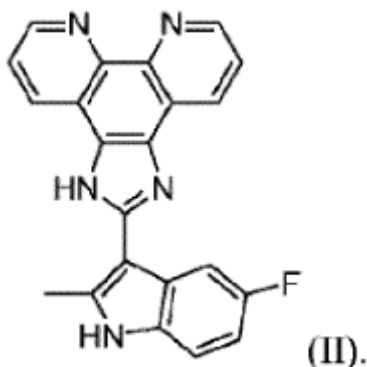
R² es halógeno.

2. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, en el que el sujeto humano tiene una producción ineficaz de células sanguíneas mieloides, anemia o recuentos sanguíneos bajos causados por insuficiencia de la médula ósea.

3. El compuesto para su uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que R¹ es metilo, isopropilo o t-butilo, y preferiblemente dicho compuesto tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:



4. El compuesto para su uso de la reivindicación 3, en el que dicho compuesto tiene la fórmula II:



5. El compuesto para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto se administra como parte de una terapia de combinación.
- 5 6. El compuesto para su uso de la reivindicación 5, en el que la terapia de combinación comprende radioterapia o quimioterapia.
7. El compuesto para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto se administra con una dosificación diaria de aproximadamente 20 mg/m² a aproximadamente 400 mg/m².
- 10 8. El compuesto para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto se administra según un programa de dosificación continua o un programa de dosificación intermitente.
9. El compuesto para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se identifica que el sujeto humano tiene uno o más niveles anormales de actividad génica, en el que el gen se selecciona del grupo que consiste en CDX2, KLF4, KDM5B, miR-2909, p53, p21, caspasa-3, Anexina V, BAX, BCL2, BCL3, BMP, Wnt, HNF4α, Fgf, Hox, SP1, MYC, CCND1, y AATF.
- 15 10. El compuesto para su uso de la reivindicación 9, en el que se identifica que el sujeto humano tiene un nivel de actividad KLF4 inferior al normal.
11. El compuesto para su uso de la reivindicación 9, en el que se identifica que el sujeto humano tiene un nivel de actividad CDX2 superior al normal.
- 20 12. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, en el que dicho sujeto humano tiene uno o más síntomas de MDS.
13. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, en el que dicho MDS es MDS de alto riesgo.

FIG. 1

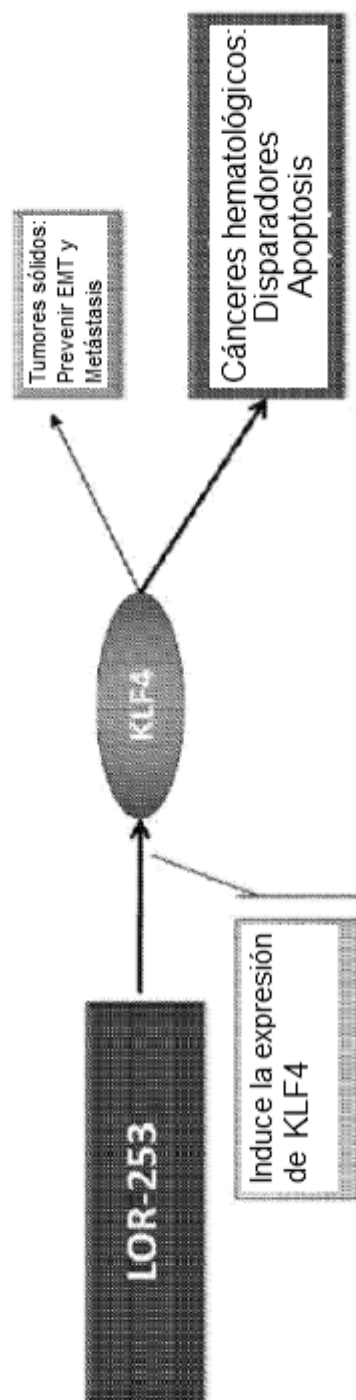
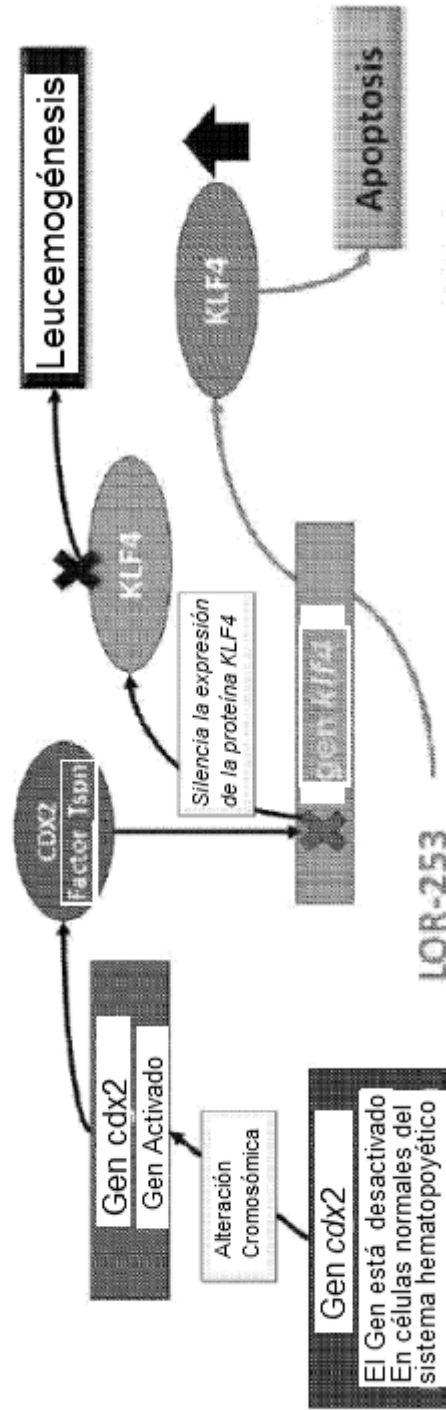


FIG. 2



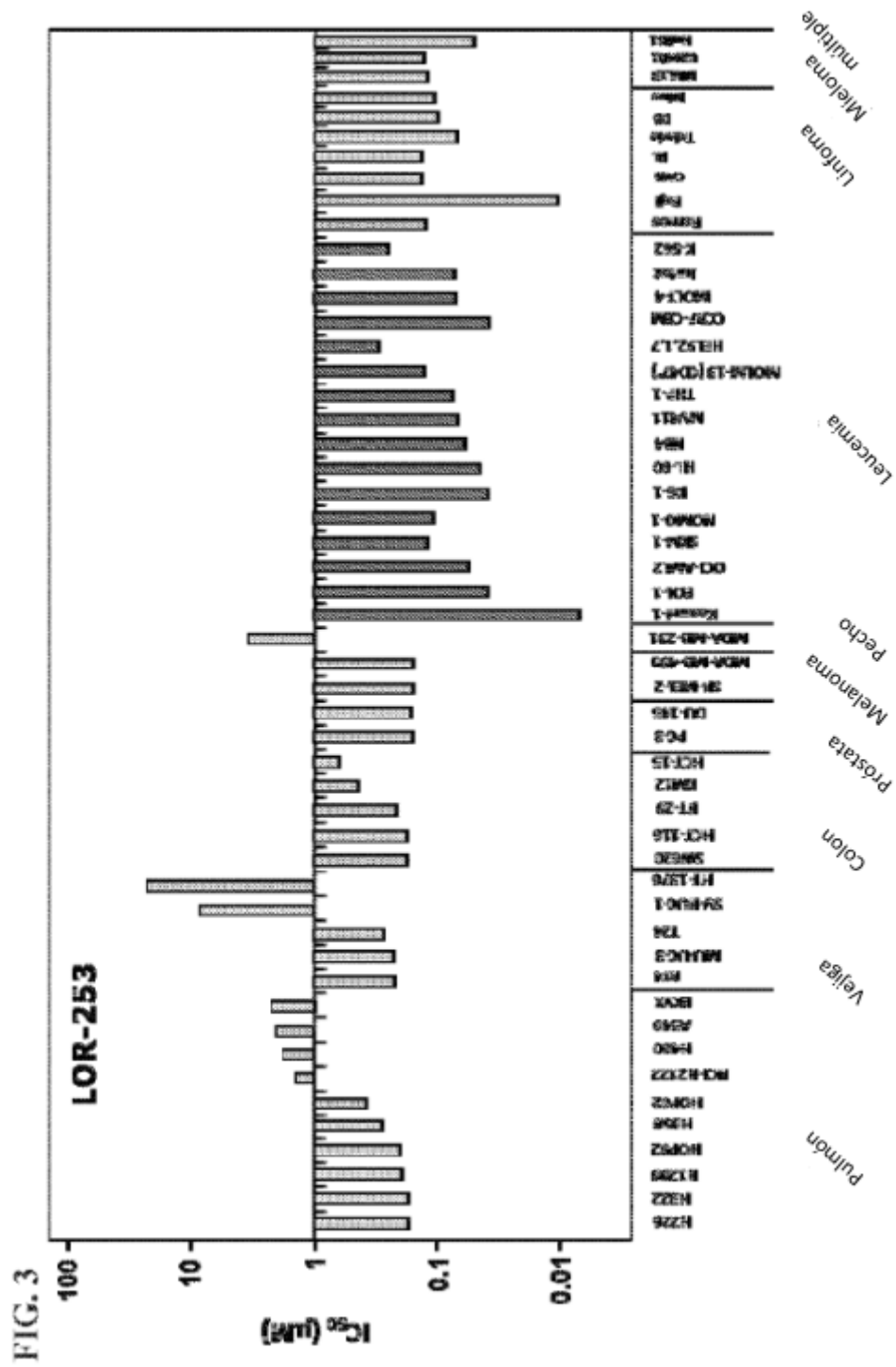


FIG. 4

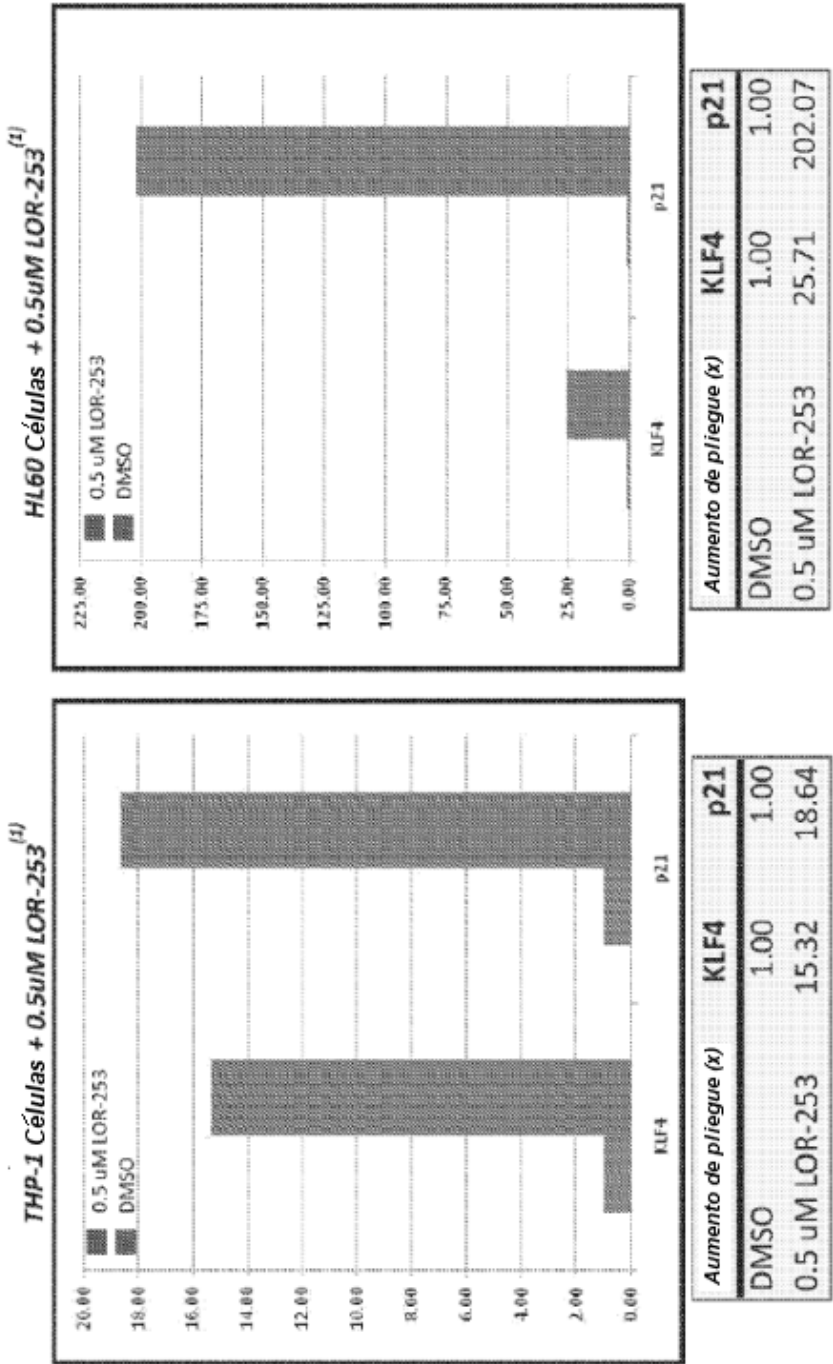
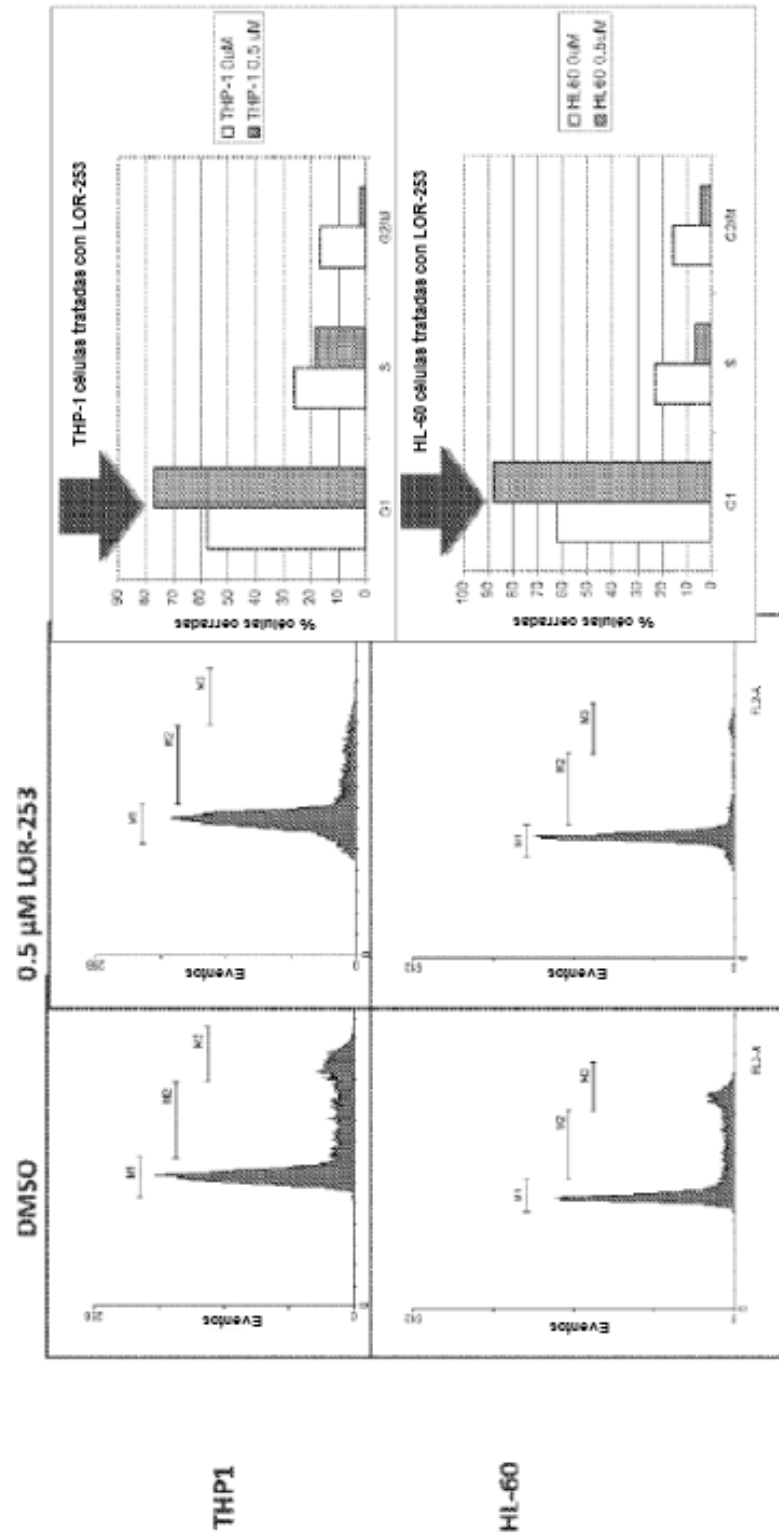


FIG. 5



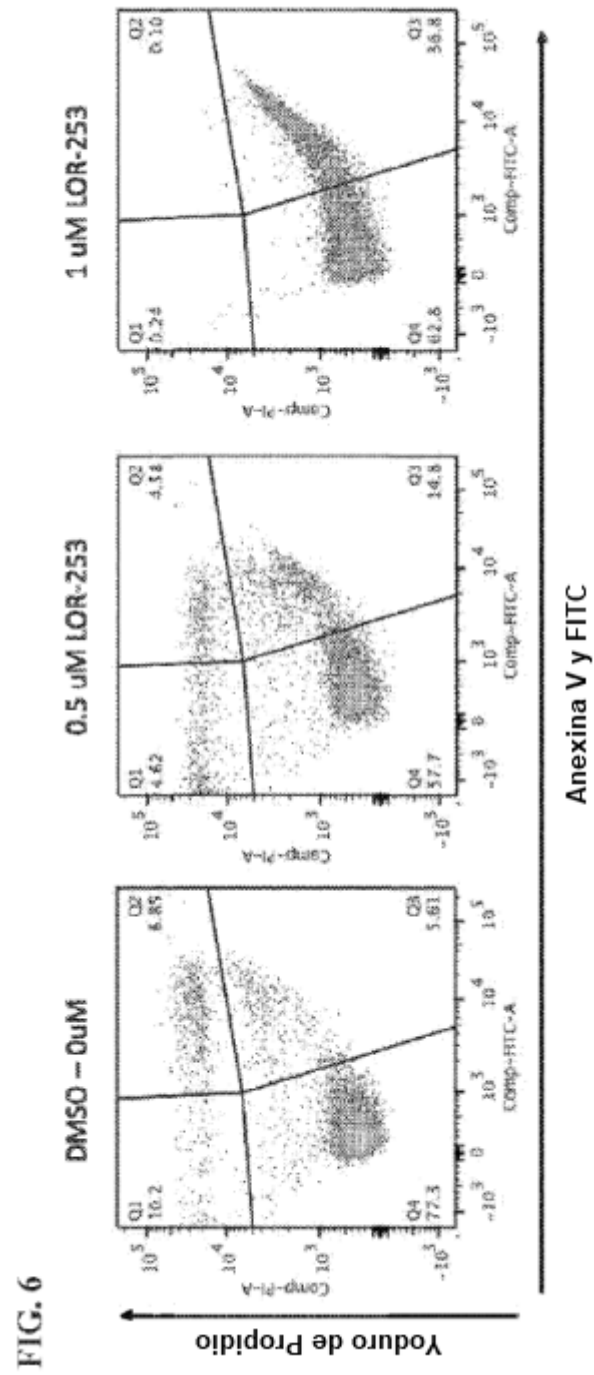


FIG. 7

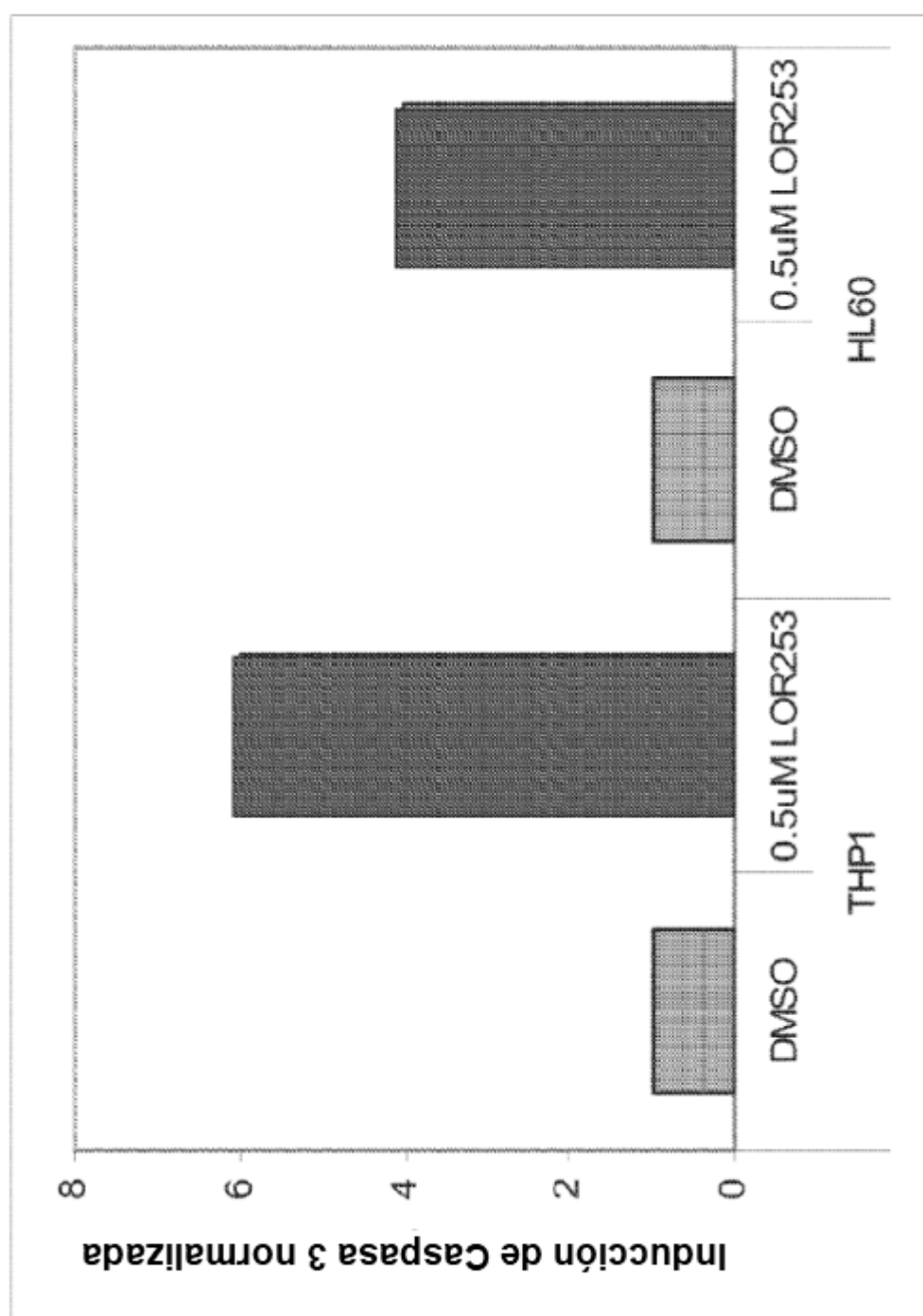


FIG. 8

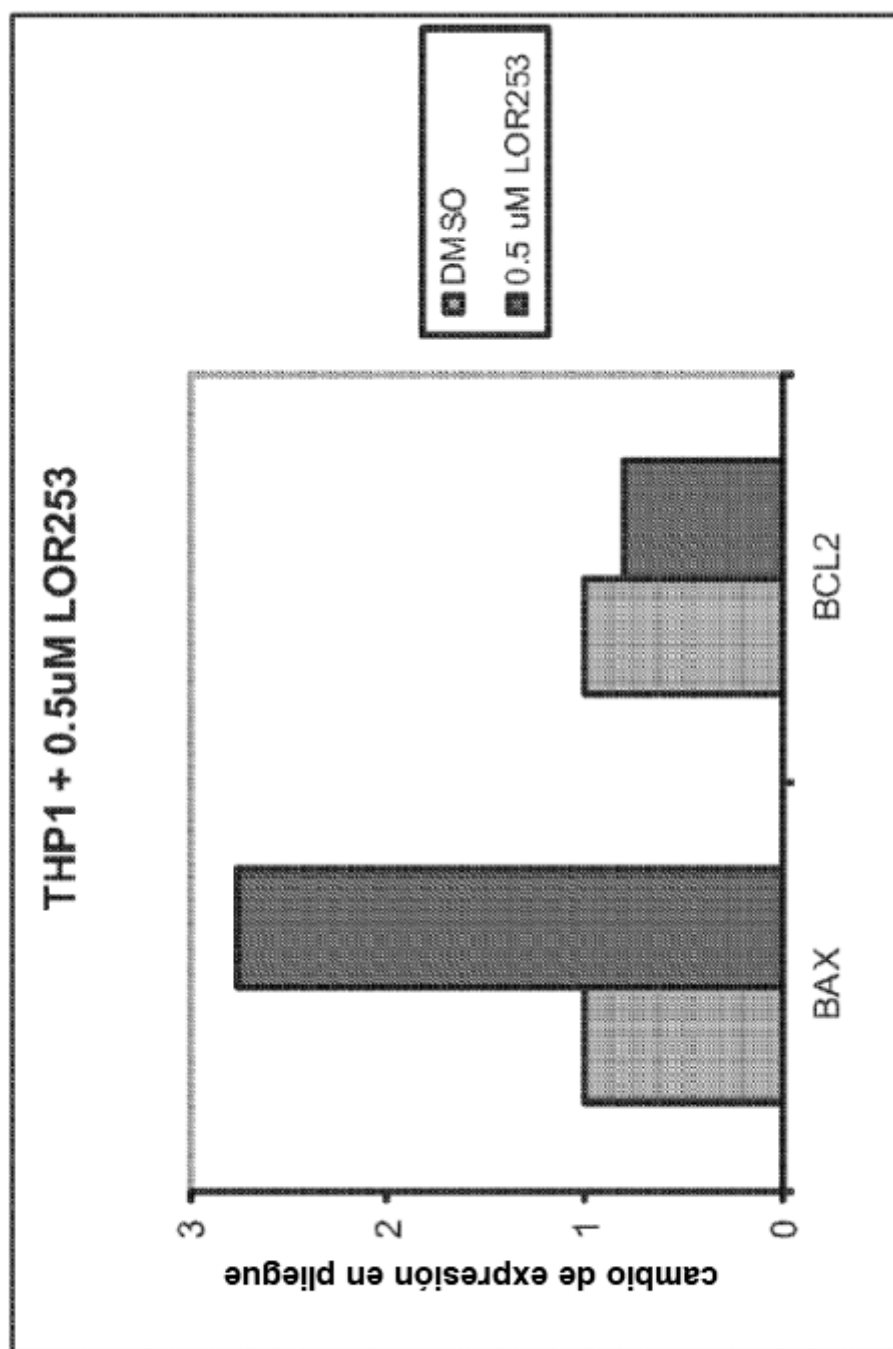
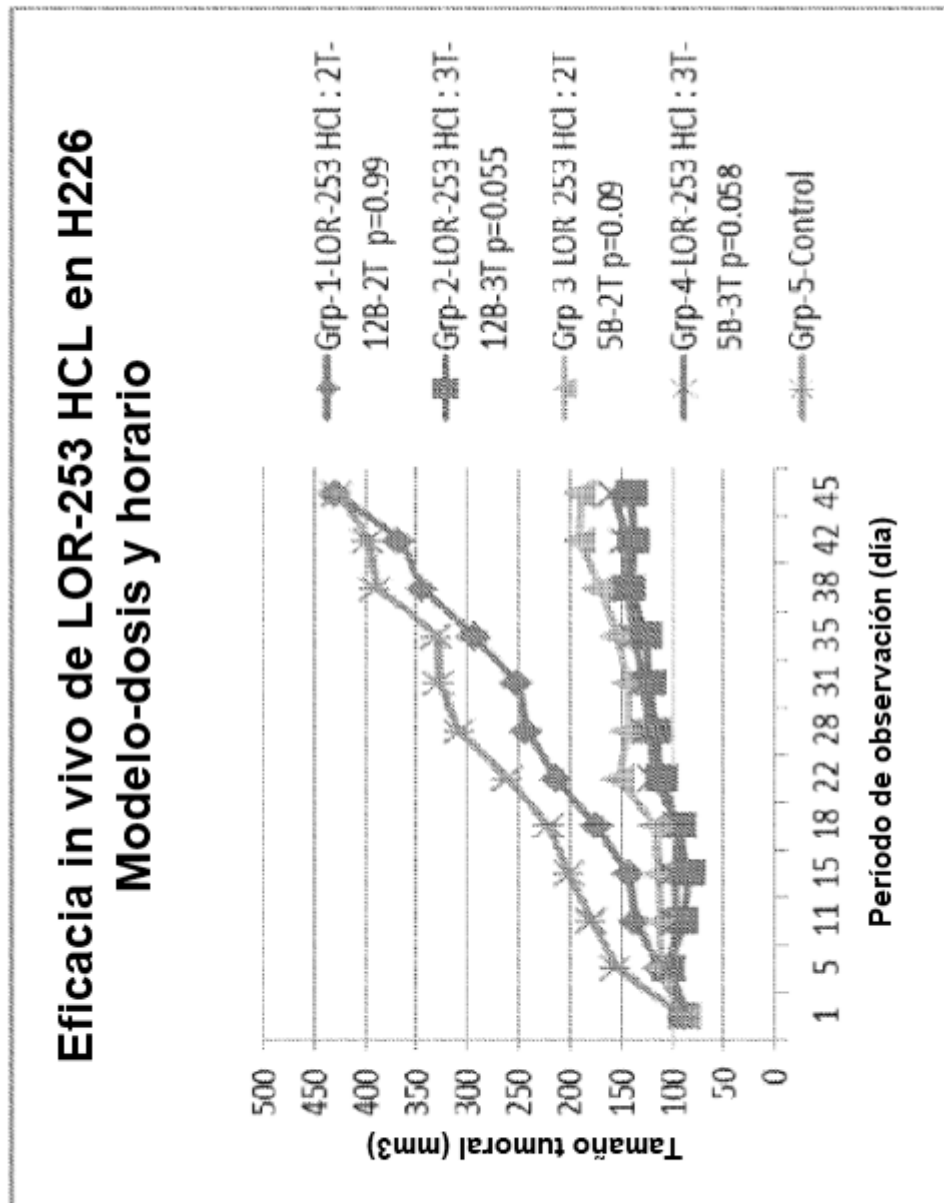


FIG. 9



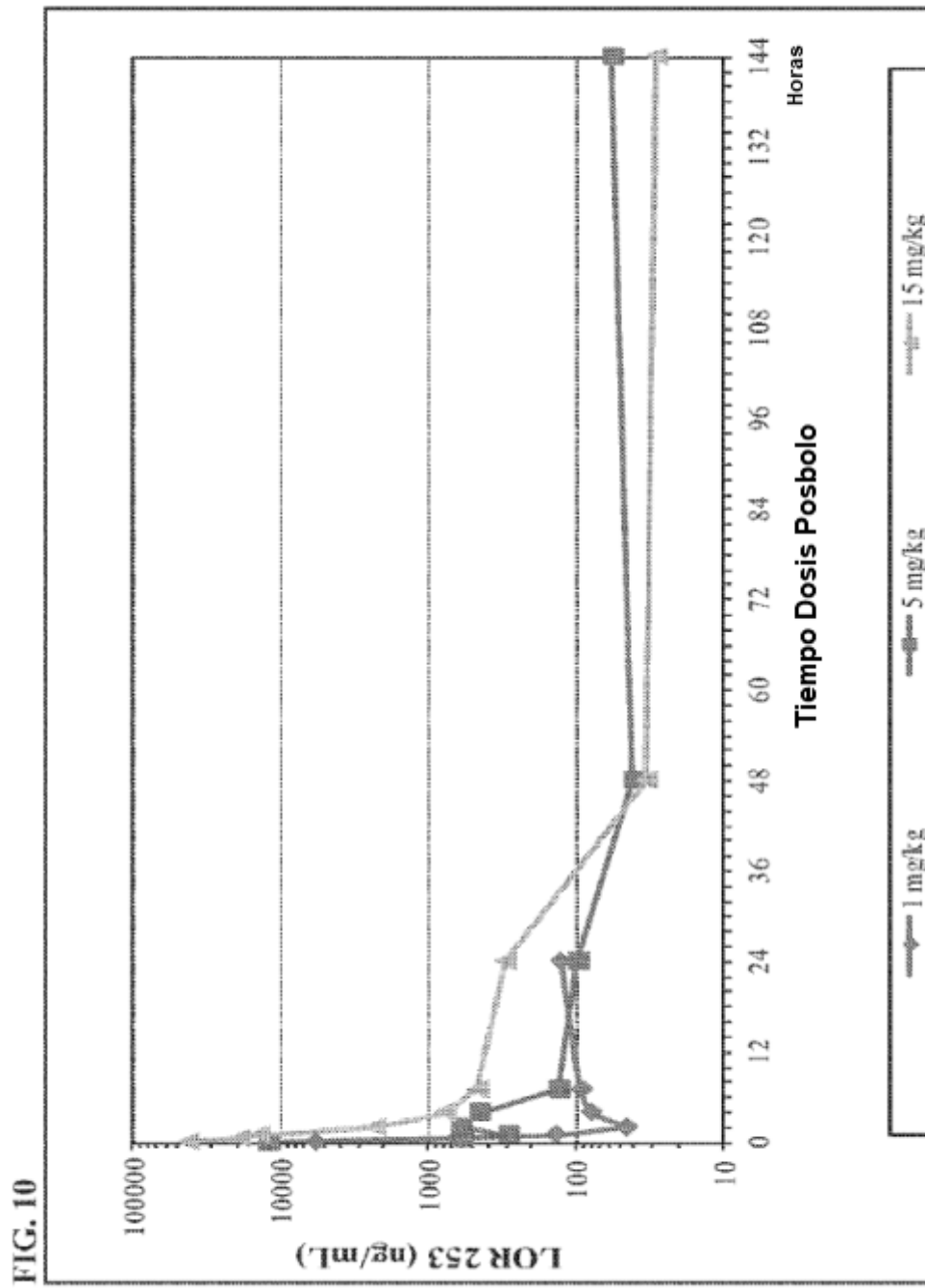
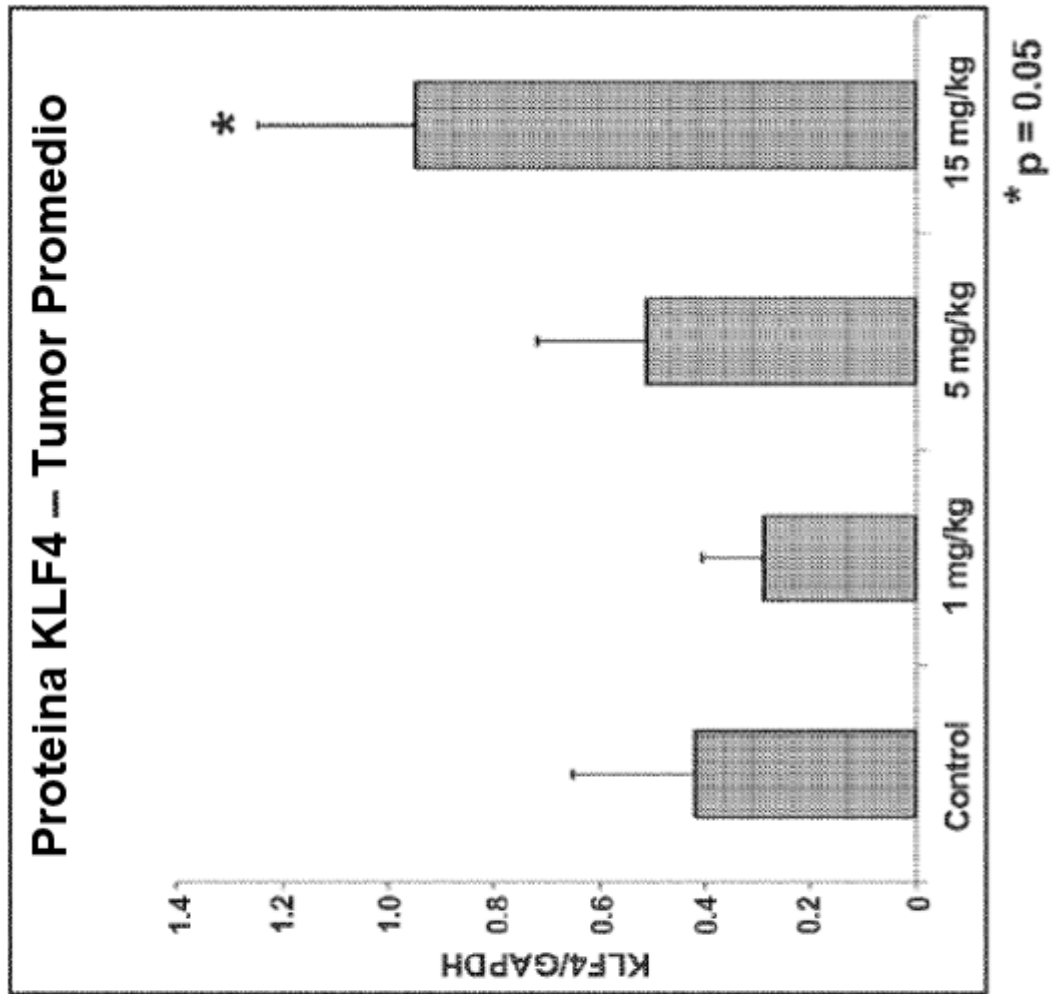


FIG. 11



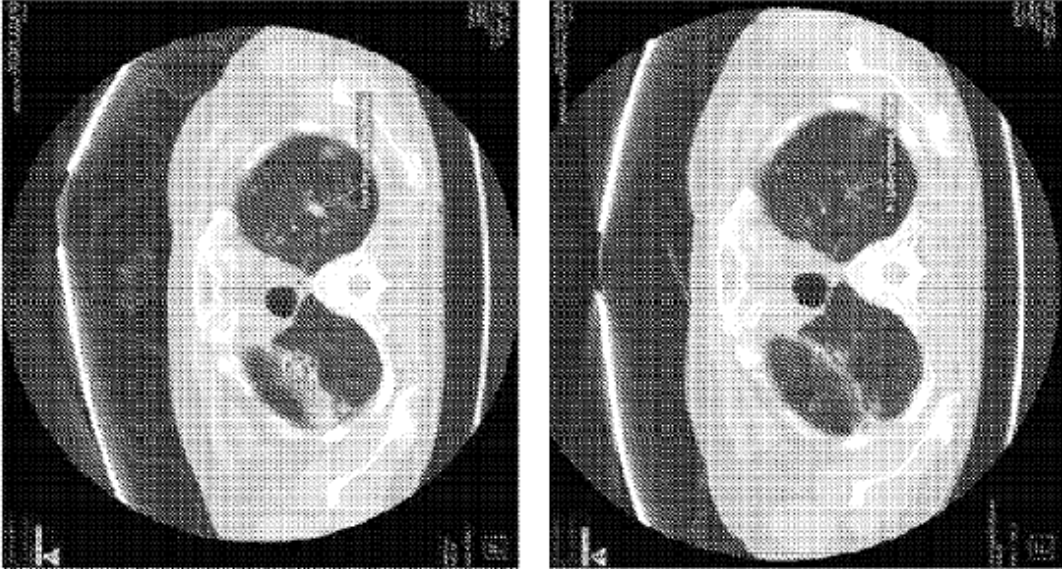


FIG. 12

FIG. 13

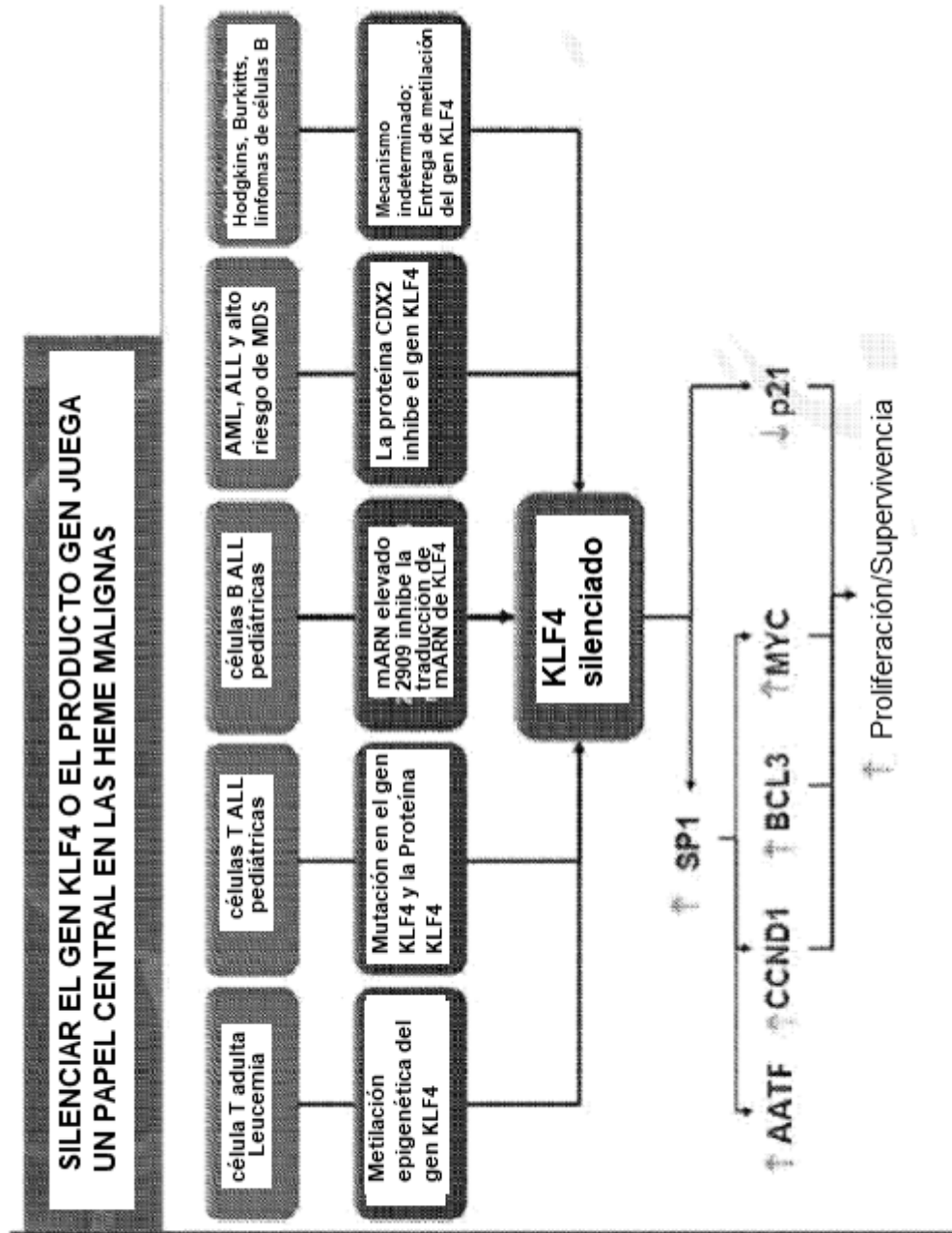


FIG. 14

EL GEN KLF4 PUEDE SILENCIARSE POR MUTACIONES GENÉTICAS O EPIGENÉTICAMENTE MEDIANTE LA METILIZACIÓN DEL ADN, CDX2/KDM5B O MIR-2909

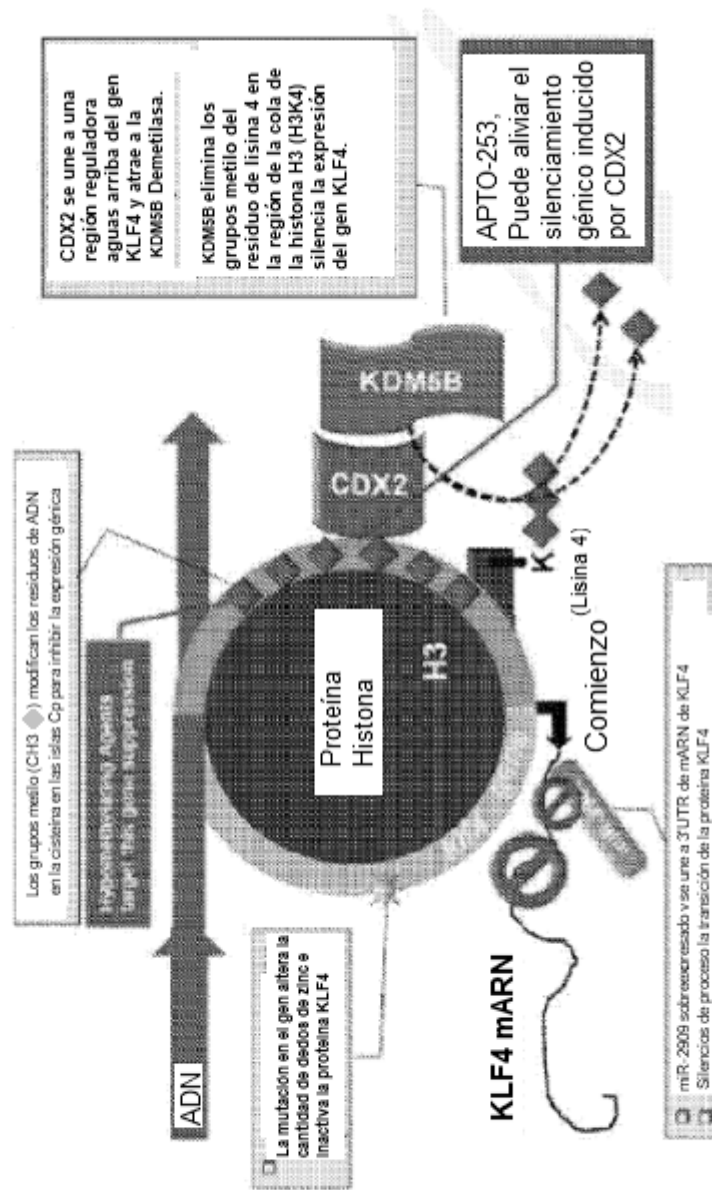


FIG. 15

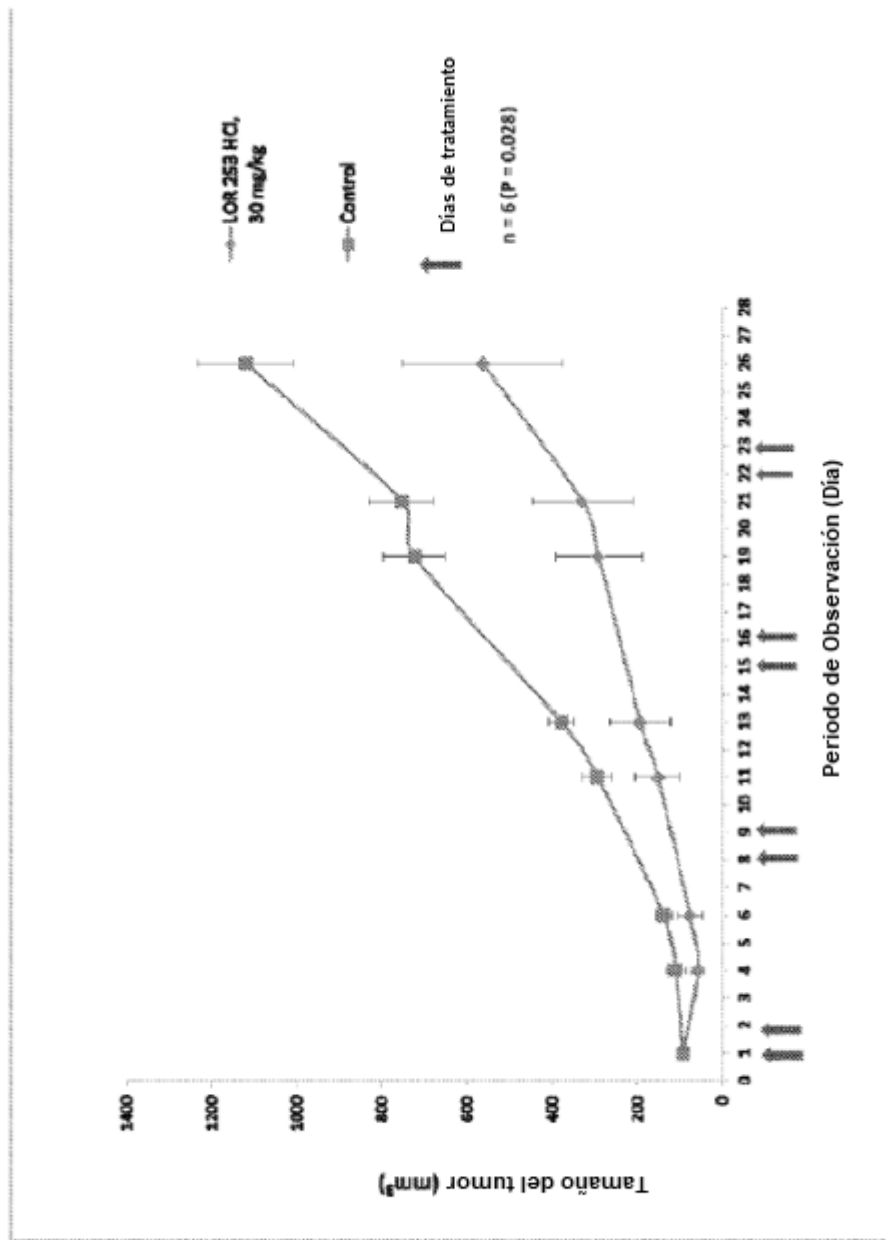


FIG. 16

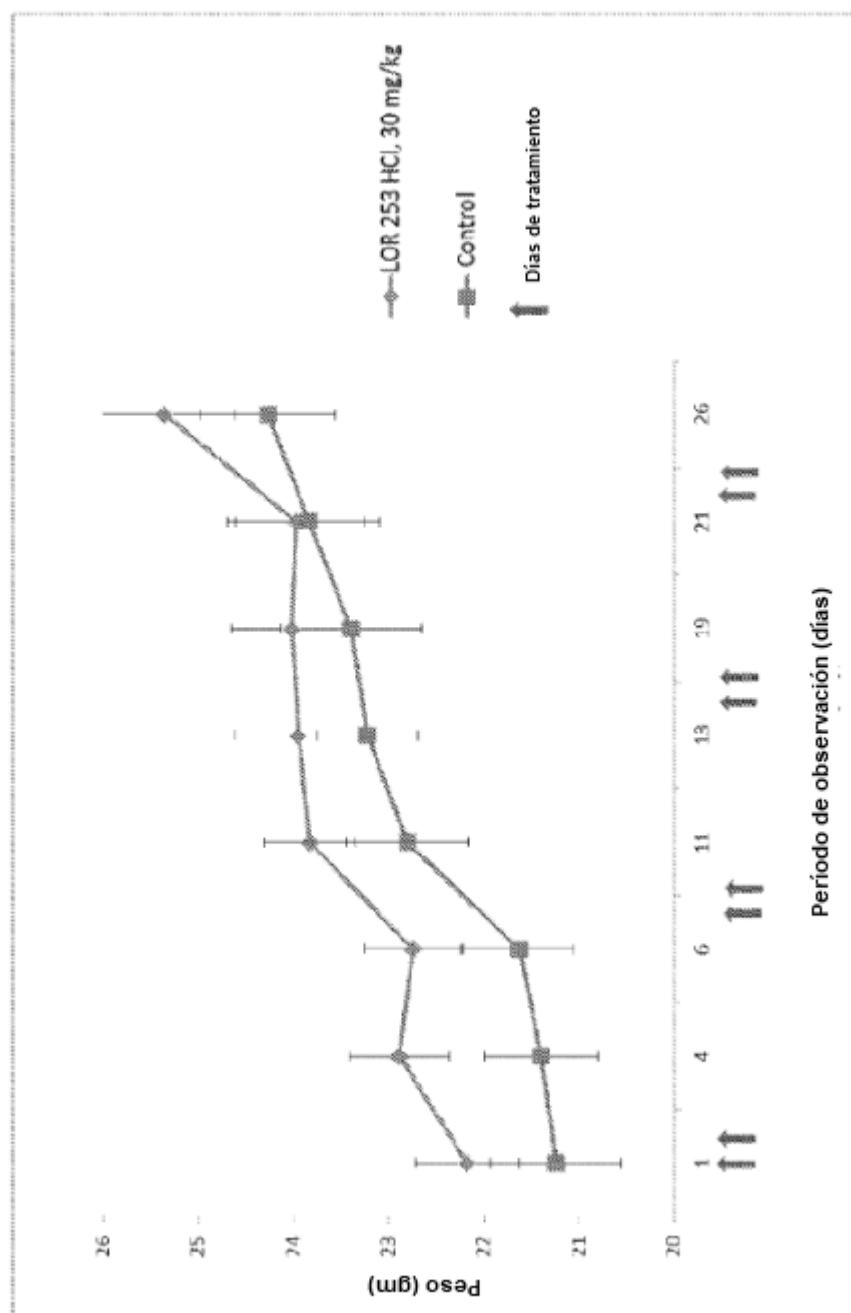


FIG. 17

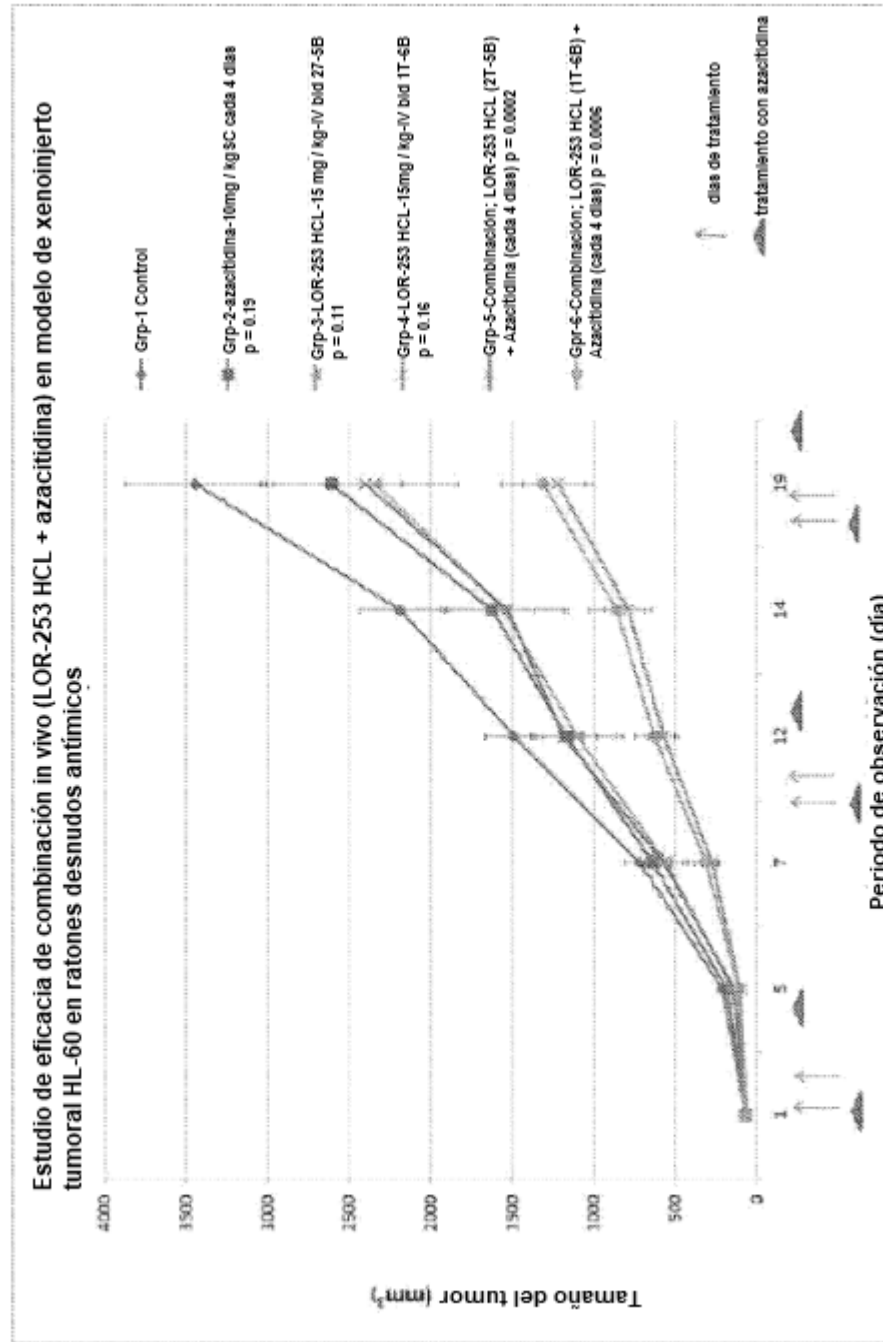


FIG. 18

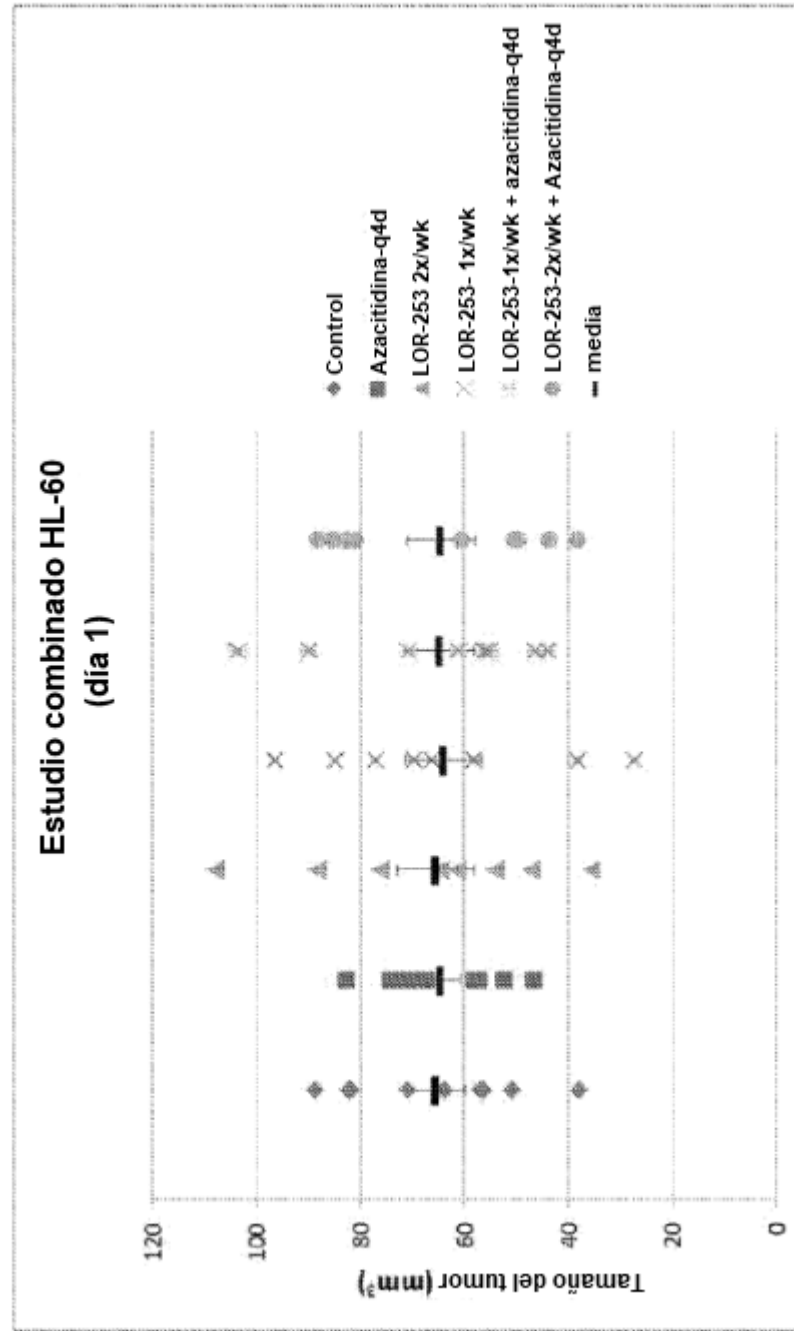


FIG. 19

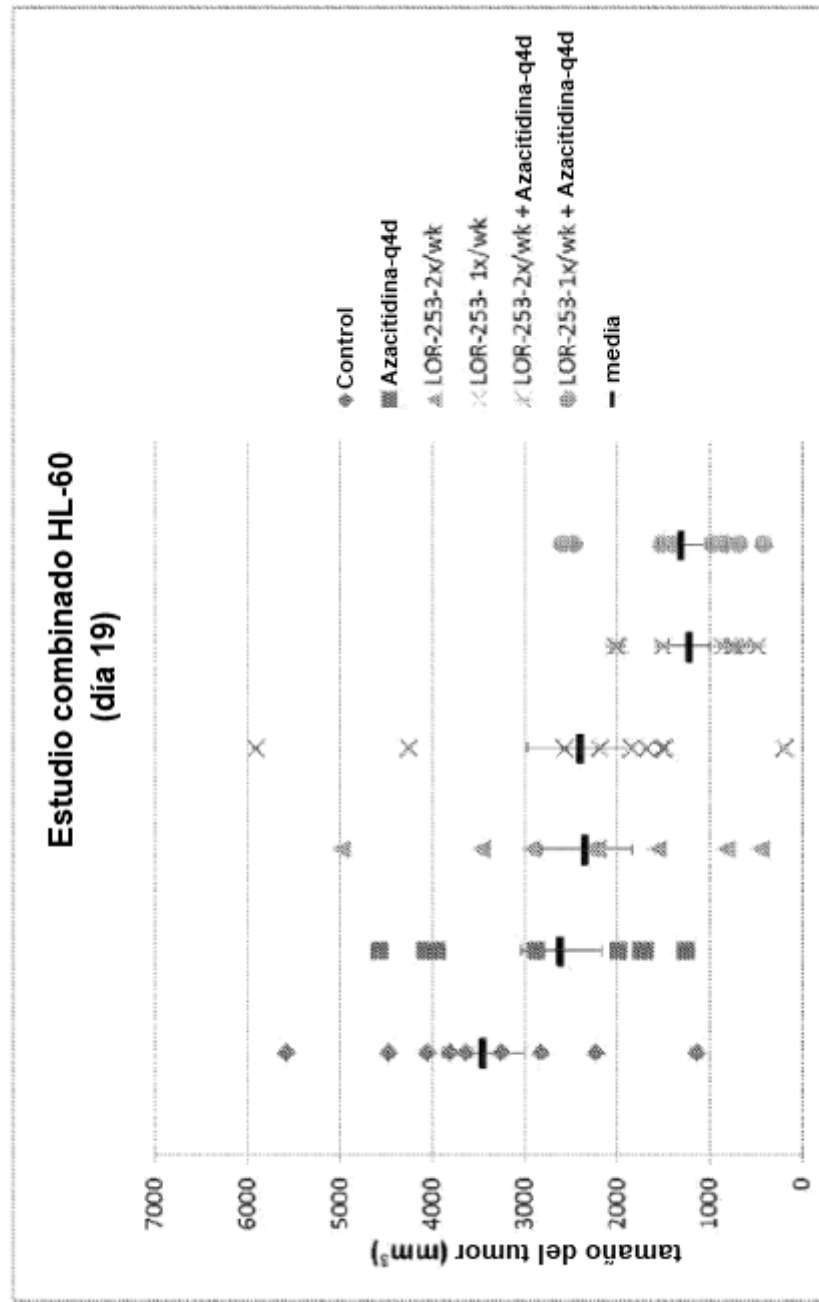


FIG. 20

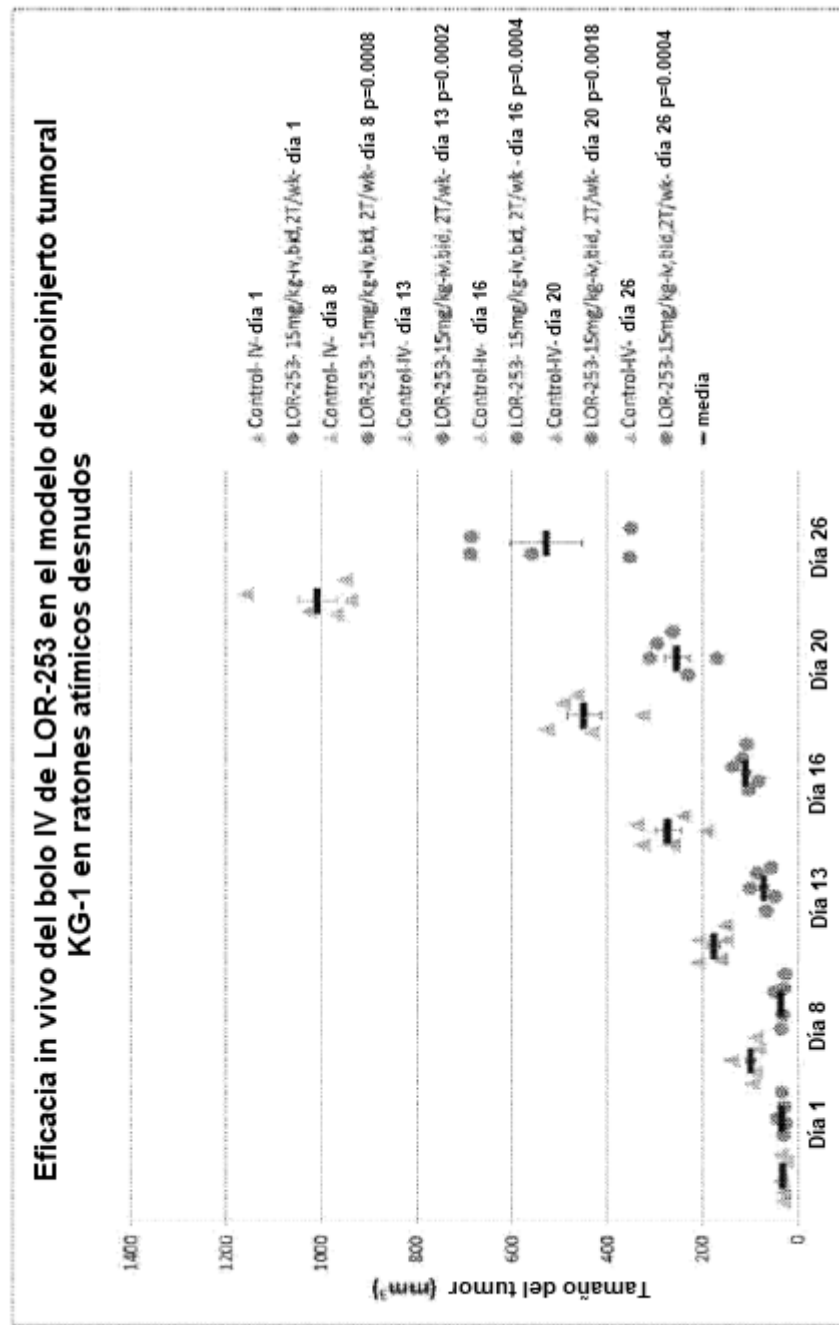


FIG. 21

Estudio de eficacia de combinación in vivo con LOR-253 y Azacitidina en el modelo de tumor de xenoinjerto THP-1 en ratones atímicos desnudos n = 12

