

Señora

Directora de la Dirección de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

E. S. D.

Re.: Expediente No. **NC2020/0006472**

Solicitud de Patente PCT entrada en Fase Nacional, para:

**“COMPUESTOS DE DERIVADOS DE TRIFENILFOSFONIO PARA
ERRADICAR CÉLULAS MADRE CANCEROSAS”**

Solicitante: **LUNELLA BIOTECH, INC.**

RESPUESTA A EXAMEN DE REQUISITOS MÍNIMOS

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio No. **6779** del 10 de junio de 2020, atentamente me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

1. Entrada en Fase Nacional

Señala el examinador que el capítulo reivindicatorio allegado para entrada en fase nacional presenta inconsistencias respecto del capítulo reivindicatorio encontrado en la publicación internacional No. WO/2019/071205. Tanto el número de reivindicaciones como el contenido de los dos capítulos reivindicatorios no coinciden.

Por consiguiente, se requiere aportar el capítulo reivindicatorio que fue presentado en fase internacional para que se considere cumplido el requisito establecido en el artículo 22 del Tratado de Cooperación en materia de Patentes (PCT) y la regla 49.5 del Reglamento del PCT, en concordancia con el numeral 5.2.5. del Título X de la Circular

Única de la Superintendencia de Industria y Comercio; es decir, que se haya presentado la traducción de la solicitud internacional tal como fue presentada.

Teniendo en cuenta que se ha solicitado y pagado la tasa correspondiente por modificaciones voluntarias a las reivindicaciones, es necesario aclarar que para poder realizar modificaciones sobre el capítulo reivindicatorio, primero se debe allegar la traducción de la solicitud tal como fue presentada en fase internacional.

2. Respuesta al requerimiento

Con el ánimo de atender el requerimiento del examinador, se desea mencionar que, durante la Fase Internacional, se solicitó el examen preliminar para la solicitud, bajo el Capítulo II. Junto con esta solicitud de examen preliminar internacional, se allegaron nuevas reivindicaciones 1 a 27.

Vale mencionar que la publicación internacional correspondiente a la presente solicitud es la WO/2019/104115 y no la WO/2019/071205, según menciona el examinador.

Teniendo en cuenta lo anterior, se desea allegar junto con el presente escrito una copia completa del texto de la solicitud original, correspondiente a la traducción al español de la publicación No. WO/2019/104115, incluyendo el pliego reivindicatorio original con 26 reivindicaciones (hubo un error en la numeración original, repitiéndose el número 25 aunque la última reivindicación correspondía a la 26). Del mismo modo, se adjunta una copia de la traducción al español de las reivindicaciones modificadas bajo el Artículo 34 del PCT, correspondiente a 27 reivindicaciones.

Por otra parte, se desea informar que la Autoridad Internacional correspondiente no ha expedido a la fecha el IPRP. No obstante, se desea allegar copia de los documentos que constan la solicitud del examen preliminar internacional, ante la Autoridad respectiva, incluyendo la carta que acompaña dicha solicitud con los argumentos de patentabilidad, y las modificaciones a las reivindicaciones bajo el Art. 34, junto con su traducción al español.

En consecuencia, dado que nos encontramos dentro del plazo para la entrada en fase nacional, se solicita atentamente tener en cuenta esta documentación y continuar la solicitud.

3. Anexos

- Copia completa del texto de la solicitud original, correspondiente a la traducción al Español de la publicación No. WO/2019/104115, incluyendo el pliego reivindicatorio original con 26 reivindicaciones.
- Copia de la traducción al español de las reivindicaciones modificadas bajo el Artículo 34 del PCT, correspondiente a 27 reivindicaciones.
- Copia de los documentos que constan la solicitud del examen preliminar internacional, ante la Autoridad respectiva, incluyendo la carta que acompaña dicha solicitud junto con los argumentos de patentabilidad, y las modificaciones a las reivindicaciones bajo el Art. 34, junto con su traducción al español.

Señora Directora,



Margarita Castellanos Abondano
C.C. No. **39.779.654** de Bogotá
T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.
Calle 117 No. 5A-35 - Bogotá, D.C.
Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C.
MCA/jms
P5430
RESPUESTA AO6779

**COMPUESTOS DE DERIVADOS DE TRIFENILFOSFONIO PARA
ERRADICAR CÉLULAS MADRE CANCEROSAS**

CAMPO DE LA INVENCION

5 Esta descripción se refiere a compuestos y terapias para fijar
como objetivo eficazmente células cancerosas "a granel" y células madre
cancerosas, mientras que se minimizan los efectos secundarios distintos de lo
deseado en células normales, y más particularmente a compuestos de
derivados de tri-fenil-fosfonio (TPP), o derivados de TPP, que fijan como
10 objetivo potencialmente células cancerosas a granel, células madre cancerosas
y células senescentes normales, para el suministro de agentes terapéuticos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las terapias convencionales contra el cáncer, tales como
15 irradiación, agentes alquilantes y anti-metabolitos, funcionan al erradicar
selectivamente células cancerosas que crecen rápidamente al interferir con los
mecanismos de crecimiento y replicación de ADN de las células. Los tumores
reaparecen frecuentemente después de estas terapias, lo que indica que no
todas las células cancerosas fueron erradicadas. Las células madre cancerosas
20 (CSCs, por sus siglas en inglés) son células iniciadoras de tumores (TICs, por
sus siglas en inglés) que parecen ser la base biológica de la falla del
tratamiento, recurrencia de tumores y metástasis distante, lo que conduce
finalmente a un resultado clínico deficiente en pacientes con cáncer. Como
consecuencia, se necesitan con urgencia nuevas terapias para fijar como
25 objetivo y erradicar específicamente las CSCs.

Es interesante que estudios recientes indican que una cualidad única de las CSCs es un incremento característico en la masa mitocondrial, lo cual puede reflejar una dependencia más estricta en la función mitocondrial u OXPHOS (fosforilación oxidativa). Varias líneas independientes de evidencia
5 respaldan la idea de que la biogénesis mitocondrial incrementada o los niveles más altos de traducción de proteínas mitocondriales pueden ocurrir en las CSCs. Por ejemplo, un análisis objetivo de proteómica muestra directamente que la masa mitocondrial es elevada en las CSCs.

Por otra parte, MitoTracker^{MR} (un tinte fluorescente mitocondrial)
10 se puede usar satisfactoriamente como un marcador para identificar y purificar las CSCs. Más específicamente, la población de células "con alto contenido de Mito" muestra la mayor capacidad para i) crecimiento independiente del anclaje y ii) capacidad de inicio de tumores in vivo.

La actividad alta de telomerasa también se correlaciona
15 directamente con la masa mitocondrial alta y la capacidad de las CSCs a experimentar una expansión proliferativa. Similarmente, la masa mitocondrial alta en las CSCs también se asoció específicamente con la producción de especies oxidantes reactivas mitocondriales (ROS, por sus siglas en inglés) (peróxido de hidrógeno) y pudieron ser fijadas como objetivo con ya sea: i)
20 antioxidantes mitocondriales, ii) inhibidores de la biogénesis mitocondrial (doxiciclina) u OXPHOS, e incluso iii) inhibidores de la proliferación celular (palbociclib, un inhibidor de CDK4/6).

Existe la necesidad en el campo de terapias anticancerosas
novedosas y efectivas, que incluyan no solo el desarrollo de nuevos
25 compuestos anticancerosos, sino también métodos para identificar nuevas

clases de compuestos que tengan eficacia anticancerosa. Los compuestos ideales son selectivos hacia células cancerosas, que incluyen TICs, y al mismo tiempo no son tóxicos para las células normales. Esto también incluye compuestos y porciones que fijan como objetivo específicamente células cancerosas a granel, células madre cancerosas y células senescentes normales, para el suministro específico de agentes terapéuticos.

SUMARIO DE LA INVENCION

Esta descripción expone un nuevo planteamiento para la erradicación de CSCs y terapias relacionadas, a través del uso de inhibidores mitocondriales novedosos. En este documento se dan a conocer nuevas estrategias para identificar señales de fijación como objetivo mitocondriales novedosas y no tóxicas, que incluyen la identidad de compuestos específicos que se pueden usar para mejorar los efectos anti-mitocondriales de otros agentes terapéuticos. En este documento también se dan a conocer modalidades demostrativas de compuestos de conjugados de TPP.

El tri-fenil-fosfonio (TPP) sirve como una señal de fijación como objetivo mitocondrial química, y también representa una nueva posibilidad de terapias anticancerosas seguras y efectivas. En este documento se dan a conocer compuestos de derivados de TPP que se han desarrollado teniendo una fuerte preferencia por la absorción en células cancerosas (por ejemplo, células cancerosas a granel, células madre cancerosas y células madre cancerosas energéticas), así como también células normales pero senescentes. De manera importante, los derivados de TPP descritos en este documento no son tóxicos en células saludables y fibroblastos normales, pero fijan como

objetivo potentemente la propagación de CSC, con un valor IC-50 tan bajo como 500 nM. Como se da a conocer en este documento, el derivado de TPP 2-buten-1,4-bis-TPP es un ejemplo de un compuesto de TPP efectivo para fijar como objetivo la propagación de CSC, entre otras terapias potenciales.

5 El presente planteamiento es puede usar para tratar y/o prevenir la recurrencia de tumores, metástasis, resistencia a fármacos y/o resistencia a la radioterapia. Los tratamientos anticancerosos fallan frecuentemente debido a que el tumor reaparece o metastatiza, particularmente después de una cirugía. También, la resistencia a fármacos y la resistencia a la radioterapia son razones
10 comunes de la falla del tratamiento contra el cáncer. Se cree que la actividad mitocondrial de CSC puede ser, por lo menos en parte, responsable de estas causas de falla del tratamiento. Las modalidades del presente planteamiento se pueden usar en situaciones donde las terapias convencionales contra el cáncer fallan, y/o en conjunción con tratamientos anticancerosos para prevenir la falla
15 debido a la recurrencia de tumores, metástasis, resistencia a fármacos y/o resistencia a la radioterapia. El presente planteamiento también puede tomar la forma de un método para dirigir un agente terapéutico a las mitocondrias de células madre cancerosas, al modificar químicamente el agente terapéutico con por lo menos un compuesto de derivado de TPP.

20 Como se usa en este documento, un derivado de TPP es un compuesto químico derivado de TPP. Por ejemplo, un compuesto de derivado de TPP puede ser 2-buten-1,4-bis-TPP; derivados de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; derivados de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; derivados de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; derivados de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; derivados de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y
25 TPP; 1-naftilmetil-TPP; derivados de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y

derivados de p-xililenbis-TPP. Se debe apreciar que la lista anterior no es una lista completa de derivados de TPP. Como se apreciará, sin embargo, la(s) porción(es) conjugada(s) puede(n) tener un impacto significativo sobre si el derivado de TPP tiene propiedades anticancerosas u otras propiedades benéficas, así como también la potencia de esas propiedades.

El presente planteamiento puede tomar la forma de un método para tratar el cáncer, en el cual se administra una cantidad farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP. El presente planteamiento también puede tomar la forma de métodos y composiciones farmacéuticas para tratar y/o prevenir la recurrencia de tumores, metástasis, resistencia a fármacos y/o resistencia a la radioterapia, en los cuales se administra una cantidad farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP, ya sea en conjunción con o después de la terapia contra el cáncer. El compuesto de derivado de TPP se puede administrar con un inhibidor mitocondrial u otro agente terapéutico, para incrementar en consecuencia la absorción del agente en células cancerosas con poco o ningún efecto sobre células saludables normales. El compuesto de derivado de TPP puede ser 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; o p-xililenbis-TPP. El compuesto de derivado de TPP comprende 2-buten-1,4-bis-TPP en algunas modalidades. En algunas modalidades, puede haber más de un derivado de TPP. En algunas modalidades, el compuesto de derivado de TPP es uno o más de: derivados de 2-buten-1,4-bis-TPP; derivados de 2-clorobencil-TPP; derivados de 3-metilbencil-TPP; derivados de 2,4-diclorobencil-TPP; derivados de 1-naftilmetil-TPP; y derivados de p-xililenbis-TPP.

Se debe apreciar que el compuesto de derivado de TPP fija como objetivo selectivamente las células madre cancerosas en modalidades del presente planteamiento. Además, en algunas modalidades, por lo menos el compuesto de derivado de TPP fija como objetivo selectivamente células
5 senescentes normales. Los compuestos de derivados de TPP pueden ser mínimamente tóxicos o, en algunas modalidades, pueden no ser tóxicos, para células saludables normales.

El presente planteamiento puede tomar la forma de una composición que tiene, como ingrediente activo, por lo menos un compuesto de
10 derivado de TPP. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica anticancerosa que tiene, como su ingrediente activo, por lo menos un compuesto de derivado de TPP. El compuesto de derivado de TPP comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; derivados de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; derivados de 2-clorobencil-TPP; 3-
15 metilbencil-TPP; derivados de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; derivados de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; derivados de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y derivados de p-xililenbis-TPP. En algunas modalidades, por ejemplo, el ingrediente activo es 2-buten-1,4-bis-TPP.

Las modalidades de la composición farmacéutica pueden erradicar
20 células cancerosas a granel, células madre cancerosas y células senescentes normales. Además, en modalidades del presente planteamiento el compuesto de derivado de TPP puede no ser tóxico hacia células saludables normales.

Los derivados de TPP también pueden erradicar células senescentes, para reducir y/o eliminar en consecuencia varias enfermedades
25 relacionadas con el envejecimiento. Por lo tanto, el presente planteamiento

puede tomar la forma de un método para tratar una aflicción a través de la administración de una cantidad farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP. El compuesto de derivado de TPP se puede administrar con uno o más agentes terapéuticos adicionales, tales como

5 agentes que tienen efectos anti-mitocondriales. La aflicción puede ser, por ejemplo, cáncer, una enfermedad asociada con la edad, un fenotipo secretor asociado con la senescencia o los efectos del envejecimiento, tales como aterosclerosis, enfermedad cardiovascular, cáncer, artritis, cataratas, osteoporosis, diabetes tipo 2, obesidad, síndrome metabólico, hipertensión,

10 enfermedad de Alzheimer, inflamación crónica, neuro-degeneración, pérdida de volumen muscular (sarcopenia), pérdida de elasticidad de la piel, encanecimiento, calvicie de patrón masculino, manchas de la edad, imperfecciones de la piel y queratosis.

15

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las FIGURAS 1(A) -1(C) muestran las estructuras de nueve derivados de TPP, también referidos como los Compuestos de TPP 1-9: la FIGURA 1(A) muestra: 1. 2-buten-1,4-bis-TPP; 2. 2-clorobencil-TPP; 3. 3-metilbencil-TPP; la FIGURA 1(B) muestra: 4. 2,4-diclorobencil-TPP; 5. 1-naftilmetil-TPP; 6. mito-TEMPO; y la FIGURA 1(C) muestra: 7. cianometil-TPP;

20 8. p-xilileno-bis-TPP; y 9. 4-cianobencil-TPP.

Las FIGURAS 2A y 2B muestran el efecto de derivados de TPP sobre la viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP en células cancerosas de mama humanas MCF-7 para el Compuesto de TPP 1 (2-buten-1,4-bis-TPP).

25

Las FIGURAS 3A y 3B ilustran el Efecto de derivados de TPP sobre la viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP en células cancerosas de mama humanas MCF-7 para los Compuestos de TPP 2 (2-clorobencil-TPP) y 3 (3-metilbencil-TPP).

5 Las FIGURAS 4A y 4B muestran el efecto de derivados de TPP sobre la viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP en células cancerosas de mama humanas MCF-7 para los Compuestos de TPP 4 (2,4-diclorobencil-TPP) y 5 (1-naftilmetil-TPP).

La FIGURA 5 ilustra los efectos de derivados de TPP sobre la
10 viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP en fibroblastos normales (hTERT-BJ1) y células cancerosas de mama humanas (MCF-7).

La FIGURA 6 ilustra la función mitocondrial deteriorada de células MCF-7 después del tratamiento con el Compuesto de TPP 1 (2-buten-1,4-bis-TPP).

15 Las FIGURAS 7A y 7B ilustran la función mitocondrial deteriorada de células MCF-7 después del tratamiento con los Compuestos de TPP 2 (2-clorobencil-TPP) y 3 (3-metilbencil-TPP).

Las FIGURAS 8A y 8B muestran la función mitocondrial deteriorada de células MCF-7 después del tratamiento con los Compuestos de
20 TPP 4 (2,4-diclorobencil-TPP) y 5 (1-naftilmetil-TPP).

La FIGURA 9 ilustra la inhibición diferencial de la actividad formadora de mamíferas de CSCs de mama MCF-7, después del tratamiento con derivados de TPP.

La FIGURA 10 muestra un planteamiento demostrativo para
25 identificar inhibidores mitocondriales que fijan como objetivo la propagación de

CSC de acuerdo con el presente planteamiento.

La FIGURA 11 ilustra un Compuesto de TPP también referido como bis-TPP.

La FIGURA 12 muestra relaciones de actividad estructural para los
5 derivados de TPP seleccionados (A) 2-buten-1,4-bis-TPP y (B) p-xileno-bis-TPP.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La siguiente descripción ilustra modalidades del presente
10 planteamiento en detalle suficiente para hacer posible la práctica del presente planteamiento. Aunque el presente planteamiento se describe con referencia a estas modalidades específicas, se debe apreciar que el presente planteamiento se puede realizar en diferentes formas, y esta descripción no se debe interpretar como limitante de ninguna reivindicación adjunta a las modalidades
15 específicas que se exponen en el presente documento. Preferiblemente, estas modalidades se proporcionan de modo que esta descripción será exhaustiva y completa, y transmitirá completamente el alcance del presente planteamiento a aquellas personas expertas en el campo.

Los inventores identificaron previamente el planteamiento para
20 inhibir la función mitocondrial en CSCs y TICs como una posibilidad para erradicar células cancerosas. Dado el papel de la biogénesis mitocondrial en la proliferación de tumores, los inventores reconocieron que la fijación como objetivo mitocondrial representa una característica valiosa para las terapias anticancerosas. El tri-fenil-fosfonio (TPP) es una señal de fijación como objetivo
25 mitocondrial química bien establecida. Las moléculas de carga unidas

covalentemente al TPP se acumulan dentro de las mitocondrias de células vivas. Sin embargo, las terapias anticancerosas satisfactorias requieren fijar como objetivo las células cancerosas, en lugar de las células normales. Como se platea en este documento, se han desarrollado ciertos derivados de TPP que

5 no solo fijan como objetivo selectivamente las mitocondrias de células cancerosas, sino que también tienen efectos secundarios de mínimos a nulos en células normales.

Con el propósito de identificar nuevas moléculas que se puedan usar para fijar como objetivo las mitocondrias dentro de las CSCs, los

10 inventores examinaron una variedad de derivados de TPP como se describen en este documento, al emplear CellTiter-Glo^{MR} para medir los niveles intracelulares de ATP en células cancerosas adherentes (MCF-7) en placas de 96 pocillos. Como 85% de ATP celular se deriva normalmente del metabolismo mitocondrial, los niveles de ATP son una excelente lectura para supervisar la

15 función mitocondrial. En paralelo, las mismas placas de 96 pocillos también se tiñeron con Hoechst 33342^{MR}, para medir el contenido de ADN, para sondear la viabilidad de células. Por lo tanto, se seleccionaron aleatoriamente 9 derivados de TPP y se sujetaron al examen en el sistema de ensayo. Las estructuras químicas de estos derivados de TPP se muestran en la Figura 1.

20 El TPP, como una señalización de fijación como objetivo mitocondrial, no es tóxico en células normales. Los inventores reconocieron que se podían desarrollar compuestos de derivados de TPP para inhibir la función mitocondrial en CSCs, y desarrollaron el planteamiento mostrado en la Figura 10 para identificar estos compuestos. Para demostrar este planteamiento, los

25 inventores usaron un ensayo de agotamiento de ATP para examinar la actividad

de los nueve derivados de TPP mostrados en la Figura 1, los cuales incluyen:
(1) 2-buten-1,4-bis-TPP; (2) 2-clorobencil-TPP; (3) 3-metilbencil-TPP; (4) 2,4-
diclorobencil-TPP; (5) 1-naftilmetil-TPP; (6) mito-TEMPO (sinónimo de cloruro
de (2- (2,2,6,6-Tetrametilpiperidin-1-oxil-4-ilamino)-2-oxoetil)trifenilfosfonio); (7)
5 cianometil-TPP; (8) p-xilileno-bis-TPP; y (9) 4-cianobencil-TPP.

Cinco de los compuestos relacionados con TPP examinados
suprimieron significativamente los niveles de ATP, lo cual produce una tasa de
aciertos mayor que 50%. Los cinco compuestos aciertos positivos se sujetaron
a una validación funcional con el analizador Seahorse XFe96^{MR}, para cuantificar
10 sus efectos sobre la tasa de consumo de oxígeno mitocondrial (OCR, por sus
siglas en inglés). Notablemente, estos compuestos aciertos de TPP no fueron
tóxicos en fibroblastos humanos normales y no afectaron su viabilidad o
producción de ATP, lo que muestra una selectividad sobresaliente para células
cancerosas. De manera más importante, estos compuestos aciertos superiores
15 bloquearon satisfactoriamente la propagación de CSC, como se muestra al
emplear el ensayo de esferoides 3D. Por ejemplo, el 2-buten-1,4-bis-TPP fue
la molécula más potente que se identificó, la cual fijó como objetivo la
propagación de CSC con un valor IC-50 < 500 nM. Es interesante que el 2-
buteno-1,4-bis-TPP contiene dos grupos TPP. Esto sugiere que el uso de una
20 porción de bis-TPP, tal como se muestra en la Figura 11, puede funcionar como
una señal "dimérica" o "polimérica" para la fijación como objetivo más efectivo
de mitocondrias en las CSCs. Se contemplan estudios adicionales para
continuar explorando el potencial de bis-TPP como un agente terapéutico
sumamente efectivo.

25 Es de destacar que cinco de los nueve compuestos de derivados

de TPP fueron "aciertos positivos" que redujeron significativamente los niveles de ATP. Estos aciertos positivos incluyeron: 2-buten-1,4-bis-TPP, 2-clorobencil-TPP, 3-metilbencil-TPP, 2,4-diclorobencil-TPP y 1-naftilmetil-TPP. Esto representa una tasa de aciertos >50% de los derivados de TPP sujetos al estudio demostrativo. Sin embargo, dos compuestos fueron completamente ineficaces en la reducción de los niveles de ATP (véase la Tabla 1). Este descubrimiento es consistente con estudios previos que muestran que la porción de TPP no es tóxica intrínsecamente para las mitocondrias de células normales.

Después del examen inicial, los cinco compuestos acierto positivos entonces se sujetaron a estudios de validación adicionales, mostrados en las Figuras 2-4, que demuestran que estos compuestos de TPP son sumamente activos en el intervalo de 0.5 a 2 μ M. Con base en este análisis inicial, el 2-buten-1,4-bis-TPP demostró la potencia más alta de los derivados de TPP aciertos positivos.

La Figura 2A muestra el efecto del Compuesto de TPP 1, 2-buten-1,4-bis-TPP, sobre la viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP en células cancerosas de mama humanas MCF-7. La viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP se determinaron en las mismas muestras tratadas. Tinción con Hoechst^{MR} (%) (mostrada en barras negras); Niveles de ATP (%) indicados en las barras blancas. Las células MCF-7 se trataron durante 72 horas. Los datos se representan como media $\pm$ SEM. Se debe tener en cuenta que el 2-buten-1,4-bis-TPP agota los niveles de ATP, en relación con el número de células. **p < 0.01; ***p < 0.001; indica la importancia, todo en relación con el control. La Figura 2B muestra una imagen

ampliada de placas de células de control y tratadas.

Las Figuras 3A y 3B muestran el efecto del Compuesto de TPP 2 (2-clorobencil-TPP) y el Compuesto de TPP 3 (3-metilbencil-TPP) sobre la viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP en células cancerosas de mama humanas MCF-7. La viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP se determinaron en las mismas muestras tratadas. Tinción con Hoechst^{MR} (%) (mostrada en barras negras); Niveles de ATP (%) indicados en barras blancas. Las células MCF-7 se trataron durante 72 horas. Los datos se representan como media +/- SEM. Se debe tener en cuenta que tanto el 2-clorobencil-TPP como el 3-metilbencil-TPP agotan progresivamente los niveles celulares de ATP. *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001; indica la importancia, todo en relación con el control.

Las Figuras 4A y 4B muestran el efecto del Compuesto de TPP 4 (2,4-diclorobencil-TPP) y el Compuesto de TPP 5 (1-naftilmetil-TPP) sobre la viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP en células cancerosas de mama humanas MCF-7. La viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP se determinaron en las mismas muestras tratadas. Tinción con Hoechst^{MR} (%) (mostrada en barras negras); Niveles de ATP (%) indicados en barras blancas. Las células MCF-7 se trataron durante 72 horas. Los datos se representan como media +/- SEM. Se debe tener en cuenta que tanto el 2,4-diclorobencil-TPP como el 1-naftilmetil-TPP agotan progresivamente los niveles celulares de ATP. *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001; indica la importancia, todo en relación con el control.

La Figura 5 muestra los efectos de derivados de TPP sobre la viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP en fibroblastos

normales (hTERT-BJ1) y células cancerosas de mama humanas (MCF-7). La viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP se determinaron en las mismas muestras tratadas. Tinción con Hoechst^{MR} (%) de fibroblastos humanos hTERT-BJ1 (negro); Nivel de ATP (%) de fibroblastos humanos hTERT-BJ1 (punteado); Tinción con Hoechst^{MR} (%) de células MCF-7 (líneas inclinadas); el nivel de ATP (%) de células MCF-7 (blanco). Tratamientos con TPP a 1 μ M, 72 horas. Los datos se representan como media $\pm$ SEM. *p < 0.05; **p < 0.01; indica la importancia, todo en relación con el control.

Como se puede observar en la Figura 5, estos derivados de TPP no son relativamente tóxicos en fibroblastos humanos normales (hTERT-BJ1), pero son preferentemente activos en células cancerosas (MCF-7). Por ejemplo, en fibroblastos humanos, el 2-buten-1,4-bis-TPP no tuvo efecto sobre la viabilidad de células y solo redujo ligeramente los niveles de ATP por 25%. En contraste, a la misma concentración (1 μ M) en células cancerosas MCF-7, el 2-buten-1,4-bis-TPP redujo la viabilidad de células por casi 65% y disminuyó los niveles de ATP por casi 85%. Por lo tanto, el 2-buten-1,4-bis-TPP fue 2.8 veces más efectivo en la reducción de la viabilidad de células en células cancerosas (contra fibroblastos). Similarmente, el 2-buten-1,4-bis-TPP fue 4.7 veces más efectivo en la reducción de los niveles de ATP en células cancerosas, en relación con fibroblastos normales.

Algunas modalidades del presente planteamiento se refieren a la identificación de compuestos de derivados de TPP que fijan como objetivo las mitocondrias en CSCs y representan potenciales terapias anticancerosas. Para validar adicionalmente que la reducción del nivel de ATP de los compuestos de TPP fue realmente debido a la inhibición de la función mitocondrial, se midieron

directamente las tasas de consumo de oxígeno mitocondrial (OCR) mediante el uso del analizador de flujo metabólico Seahorse XFe96^{MR}. Los resultados se muestran en las Figuras 6-8. Los cinco compuestos de TPP se comportaron de forma similar, y redujeron de manera efectiva la respiración mitocondrial basal, con un valor IC-50 de aproximadamente 1 μ M. Los derivados de TPP identificados también mostraron una reducción significativa en la respiración vinculada con ATP, respiración máxima y capacidad respiratoria de reserva.

La Figura 6 ilustra la función mitocondrial deteriorada de células MCF-7 después del tratamiento con el Compuesto de TPP 1. Las Figuras 7A y 7B ilustran la función mitocondrial deteriorada de células MCF-7 después del tratamiento con ya sea el Compuesto de TPP 2 o el Compuesto de TPP 3. La Figura 8 muestra la función mitocondrial deteriorada de células MCF-7 después del tratamiento con ya sea el Compuesto de TPP 4 o el Compuesto de TPP 5. La tasa de consumo de oxígeno (OCR) se midió con un Analizador de Flujo Extracelular Seahorse XF96^{MR}. Los datos se representan como media $\pm$ SEM. Se debe tener en cuenta que el 2-buten-1,4-bis-TPP inhibe de manera efectiva el consumo de oxígeno mitocondrial. Para la FIGURA 6, **p < 0.01; ***p < 0.001; indica la importancia, todo en relación con el control. Se debe tener en cuenta que tanto el 2-clorobencil-TPP como el 3-metilbencil-TPP inhiben de manera efectiva el consumo de oxígeno mitocondrial. Para la FIGURA 7, **p < 0.01; ***p < 0.001; indica la importancia, todo en relación con el control. Se debe tener en cuenta que tanto el 2,4-diclorobencil-TPP como el 1-naftilmetil-TPP inhiben de manera efectiva el consumo de oxígeno mitocondrial. Y para la Figura 8, **p < 0.01; ***p < 0.001; indica la importancia, todo en relación con el control.

Después de la validación, los inventores evaluaron los efectos de estos compuestos de derivados de TPP sobre la propagación de CSCs, mediante el uso del ensayo de mamóferas como una lectura. La Figura 9 muestra la inhibición diferencial de la actividad de formación de mamóferas de CSCs de mama MCF-7, después del tratamiento con varios derivados de TPP. Los datos presentados en la Figura 9, de izquierda a derecha, son derivados de TPP en el siguiente orden: 2,4-diclorobencil-TPP (negro); 1-naftilmetil-TPP (líneas inclinadas); 3-metilbencil-TPP (líneas de puntos); 2-clorobencil-TPP (blanco); 2-buten-1,4-bis-TPP (líneas horizontales). Las células se trataron durante 5 días en medios de mamóferas. Los datos se representan como media $\pm$ SEM. Se debe tener en cuenta que el 2-buten-1,4-bis-TPP fue el compuesto más efectivo para bloquear la propagación de CSC, con un valor IC-50 menor que 500 nM. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; indica la importancia, todo en relación con el control.

Es interesante que el 2-buten-1,4-bis-TPP fue el más efectivo, con un valor IC-50 < 500 nM. En contraste, para dos de los otros compuestos sometidos a prueba (2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP) el valor IC-50 estuvo entre 1 y 5 μ M. Finalmente, el 1-naftilmetil-TPP fue el menos potente, con un valor IC-50 > 5 μ M. Por lo tanto, los inventores concluyeron que el 2-buten-1,4-bis-TPP es de 2 a 10 veces más potente que los otros compuestos de TPP, para fijar como objetivo la propagación de CSC. Esto es a pesar del hecho de que los derivados de TPP identificados tuvieron un comportamiento casi idéntico en la reducción de la respiración mitocondrial y la producción de ATP. Por lo tanto, otra propiedad inherente del 2-buten-1,4-bis-TPP permite que fije como objetivo mejor las CSCs que los otros compuestos de TPP explorados en

el trabajo confirmatorio de los inventores.

La Figura 10 muestra una modalidad del método de acuerdo con el presente planteamiento: Identificar inhibidores mitocondriales para fijar como objetivo la propagación de CSC. En primer lugar, en S1001, los compuestos
5 prospectivos se seleccionan de una colección y se sujetan a ensayos de agotamiento de ATP en células cancerosas. Como se planteaba anteriormente, los inventores seleccionaron compuestos relacionados con TPP como el punto de inicio para el examen, debido a que esto asegura que todos los compuestos sometidos a prueba sean dirigidos a las mitocondrias. Se debe apreciar por
10 parte de aquellas personas de experiencia ordinaria en el campo que otros compuestos relacionados con TPP, u otros compuestos que contienen porciones que tienen una capacidad demostrada o esperada para fijar como objetivo la membrana mitocondrial, se pueden seleccionar conforme al presente planteamiento. Los compuestos que reducen los niveles de ATP entonces se
15 identifican S1002, y luego se pueden validar funcionalmente S1003 a través de, como un ejemplo, un análisis de las tasas de consumo de oxígeno mitocondrial (OCR) tal como se planteaba anteriormente. Se debe apreciar que aquellas personas que tienen experiencia ordinaria en el campo pueden emplear ensayos alternativos para confirmar que la reducción del nivel de ATP es debido
20 a la inhibición de la función mitocondrial. Después de la validación, se pueden evaluar los efectos de compuestos identificados sobre la proposición de CSC S1004. Como se planteaba anteriormente, una modalidad del presente planteamiento usó ensayos de mamíferos para evaluar los efectos de propagación de CSC, aunque aquellas personas que tienen experiencia
25 ordinaria en el campo pueden usar planteamientos alternativos para evaluar la

eficacia de un compuesto identificado para fijar como objetivo las CSCs. El resultado de este planteamiento es la identificación de nuevos compuestos que tienen efectos de inhibición de CSC. Provechosamente, como se aplica en el análisis confirmatorio descrito en este documento, el presente planteamiento

5 demuestra que los derivados de TPP identificados son inhibidores mitocondriales de las CSCs que no son tóxicos en fibroblastos humanos normales, lo que limita de manera efectiva en consecuencia la toxicidad de fármacos.

La Figura 11 muestra un derivado de TPP referido como bis-TPP.

10 Este derivado de TPP es una señal de fijación como objetivo mitocondrial efectiva para erradicar células madre cancerosas (CSC). La estructura "dimérica" del bis-TPP se muestra en el dibujo, donde R representa un grupo o porción química. Por ejemplo, R se puede seleccionar del grupo que consiste de hidrógeno, carbono, nitrógeno, azufre, oxígeno, flúor, cloro, bromo, yodo,

15 carboxilo, alcanos, alcanos cíclicos, derivados basados en alcanos, alquenos, alquenos cíclicos, derivados basados en alquenos, alquinos, derivados basados en alquinos, cetonas, derivados basados en cetonas, aldehídos, derivados basados en aldehídos, ácidos carboxílicos, derivados basados en ácidos carboxílicos, éteres, derivados basados en éteres, ésteres y derivados basados

20 en ésteres, aminas, derivados basados en aminos, amidas, derivados basados en amidas, areno monocíclico o policíclico, heteroarenos, derivados basados en arenos, derivados basados en heteroarenos, fenoles, derivados basados en fenoles, ácido benzoico y derivados basados en ácido benzoico.

La Figura 12 muestra las relaciones de actividad estructural del 2-

25 buteno-1,4-bis-TPP (véase las Figuras 1 y 2) y el p-xilileno-bis-TPP (véase la

Figura 1 y Tabla 1), este último es aproximadamente 200 veces menos potente, en el contexto del agotamiento de ATP. Esto demuestra que mientras que los compuestos de bis-TPP pueden ser efectivos para erradicar las CSCs, algunos grupos R pueden proporcionar significativamente más (o menos) potencia para
 5 fijar como objetivo las CSCs. Aquellas personas que tienen experiencia ordinaria en el campo apreciarán la necesidad de evaluar la potencia de cada compuesto de derivado de TPP potencial.

10

Tabla 1. Cuatro Compuestos de TPP Ineficaces

	Tinción con Hoechst ^{MR} (%)	Nivel de ATP (%)
mito-TEMPO*	100.0	100.0
cianometil-TPP	97.2	95.1
15 4-cianobencil- TPP	72.7	68.2
p-xililenbis-TPP	69.1	43.9

*(2-(2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oxil-4-ilamino)-2-oxoetil-TPP

20

La viabilidad de células y los niveles intracelulares de ATP se determinaron en las mismas muestras tratadas.

Línea de células MCF-7, tratamiento con 50 μ M durante 72 horas.

25

Los siguientes párrafos describen los materiales y los métodos usados en relación con el planteamiento anterior. Se debe apreciar que aquellas personas que tienen por lo menos un nivel ordinario de experiencia en el campo estarán familiarizadas con estos métodos.

Con respecto al cultivo de células y los reactivos, la línea de células de adenocarcinoma de mama humanas (MCF-7) fue de the American Type Culture Collection (ATCC). Las células hTERT-BJ1 fueron de Clontech, Inc. Las células MCF-7 y hTERT-BJ1 se desarrollaron en DMEM
5 complementado con 10% de suero bovino fetal%, GlutaMAX y 1% de penicilina-estreptomicina y se incubaron a 37°C en una incubadora humidificada con 5% de CO₂. El medio se cambió 2-3 veces/semana. Los derivados de TPP fueron de Santa Cruz Biotechnology, Inc., e incluyeron: (1) 2-buten-1,4-bis-TPP; (2) 2-clorobencil-TPP; (3) 3-metilbencil-TPP; (4) 2,4-diclorobencil-TPP; (5) 1-
10 naftilmetil-TPP; (6) mito-TEMPO; (7) cianometil-TPP; (8) p-xilileno-bis-TPP; (9) 4-cianobencil-TPP.

Con respecto al ensayo de agotamiento de ATP (con CellTiter-Glo^{MR} y Hoechst 33342^{MR}), las células MCF-7 se trataron con diferentes derivados de TPP durante 72 horas en una placa negra de 96 pocillos luego los
15 pocillos se lavaron con PBS y se tiñeron con Hoechst 33342^{MR} a una concentración final de 10 µg/ml. La fluorescencia se leyó mediante un lector de placas a 355 nm (excitación), 460 nm (emisión). Después del lavado con PBS el ensayo luminiscente CellTiterGlo^{MR} (Promega) se realizó de acuerdo con los protocolos del fabricante para determinar los niveles intracelulares de ATP en
20 las células teñidas con Hoechst^{MR}. Los datos tanto de fluorescencia como de luminiscencia se normalizaron contra los niveles de control y se mostraron como porcentaje para comparación.

Para medir la OCR mitocondrial, la función mitocondrial se determinó mediante el uso del equipo de prueba XF Cell Mito Stress^{MR}
25 (Seahorse Bioscience, MA, EUA) con un Analizador de Flujo Extracelular

Seahorse XFe96^{MR} (Seahorse Bioscience, MA, EUA). Las células MCF-7 se sembraron en una placa de cultivo de tejido de 96 pocillos especializada (microplaca XF96). Al siguiente día, los derivados de TPP se agregaron y la placa se incubó durante 72 horas. Antes del experimento los medios se
5 cambiaron a medio base XF (que incluía piruvato 1 mM, glutamina 2 mM y glucosa 10 mM), las células se incubaron a 37°C en una atmósfera libre de CO₂ durante una hora antes de la medición. Después de la detección de la OCR basal (un indicador para la respiración mitocondrial) las respuestas de OCR se evaluaron hacia la aplicación de oligomicina (1 µM), FCCP (600 nM), y
10 la combinación de antimicina (1 µM) y rotenona (1 µM). A partir de estas mediciones se determinaron varios parámetros de función mitocondrial. Para determinar la viabilidad de células en los pocillos medidos se realizó el ensayo de sulforrodamina (SRB). Los valores de la tasa de consumo de oxígeno luego se normalizaron contra los valores de SRB determinados.

15 Para el ensayo de esferoides 3D (mamosferas), una suspensión individual de células MCF-7 se preparó mediante el uso de la desagregación enzimática (1x Tripsina-EDTA, Sigma Aldrich, #T3924) y manual (aguja calibre 25) para crear una suspensión individual de células. Las células se colocaron a una densidad de 500 células/cm² en medio de mamosferas (medios de DMEM-
20 F12 que incluían B27/20 ng/ml y EGF/PenEstrep) en condiciones no adherentes, en placas de cultivo revestidas con (2-hidroxietilmetacrilato) (poli-HEMA, Sigma, #P3932). Diferentes derivados de TPP se diluyeron previamente en los medios de mamosferas antes de la adición de células. Las placas se mantuvieron en una incubadora humidificada a 37°C a presión atmosférica en
25 5% (en v/v) de dióxido de carbono/aire. Después de 5 días de cultivo, las

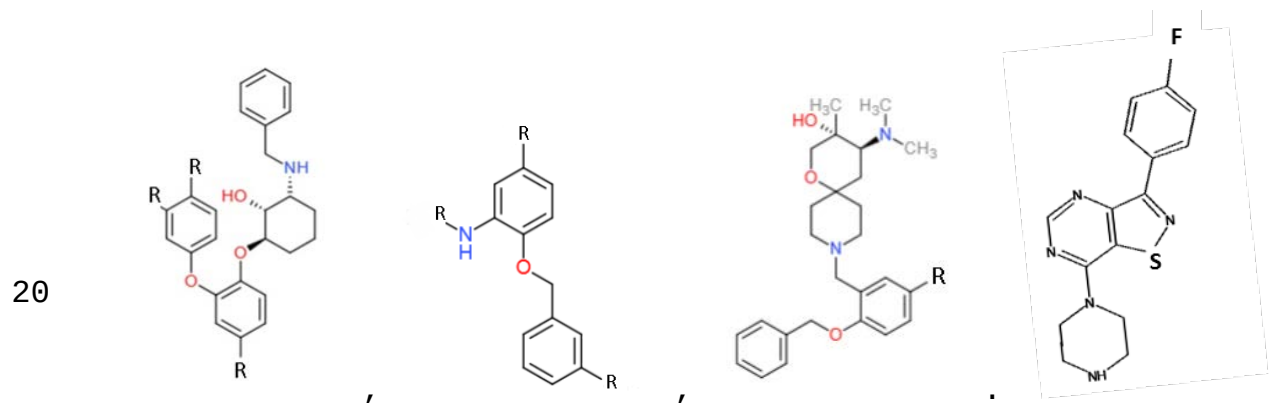
esferas $>50\ \mu\text{m}$ se contaron mediante el uso de una gráticula de lente ocular y los números de mamosferas se normalizaron contra tratamientos de control (células tratadas únicamente con vehículo).

La descripción anterior demuestra que los compuestos
5 relacionados con TPP representan una estrategia química novedosa para fijar como objetivo eficazmente células cancerosas "a granel" y CSCs, mientras que se minimizan los efectos secundarios distintos a lo deseado en células normales. En este contexto, bis-TPP representa una forma más potente y selectiva de compuestos de TPP, especialmente para fijar como objetivo las
10 CSCs. Parte de esta potencia y selectividad también puede venir del enlace doble reactivo en la porción de buteno central, ya que el p-xilileno-bis-TPP (véase la Tabla 1 anterior) fue ~200 veces menos efectivo que el 2-buten-1,4-bis-TPP (como se muestra en la FIGURA 2), en la reducción de los niveles globales de ATP. La Figura 12 muestra una comparación paralela de estas dos
15 estructuras.

Se debe apreciar que, conforme al presente planteamiento, el agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial, incluso si un efecto secundario o de otra manera una propiedad distinta a lo deseado, se puede usar en relación con un derivado de TPP como un agente terapéutico anti-
20 canceroso. Por ejemplo, los derivados de TPP se pueden administrar enlazados covalentemente con uno o más agentes terapéuticos. El agente terapéutico puede ser un producto farmacéutico conocido, que incluye, por ejemplo, un antibiótico aprobado por la FDA u otro fármaco que tenga efectos secundarios anti-mitocondriales. El agente terapéutico puede ser un inhibidor de la
25 biogénesis mitocondrial, tal como doxiciclina, mitorriboscina (agentes

terapéuticos dirigidos a mitorribosomas que tienen propiedades anticancerosas y antibióticas), una mitoquetoscina (compuestos no carcinogénicos que se enlazan a por lo menos uno de ACAT1/2 y OXCT1/2 e inhiben la producción de ATP mitocondrial), una antimitoscina (un antibiótico que tiene propiedades anti-
 5 mitocondriales inherentes que se modifican químicamente para dirigir los antibióticos a las mitocondrias), como ejemplos adicionales. La Solicitud de Patente Internacional PCT/US2018/022403, presentada el 14 de Marzo de 2018, la Solicitud de Patente Internacional PCT/US2018/033466, presentada el 18 de Mayo de 2018 y la Solicitud de Patente Internacional
 10 PCT/US2018/039354, presentada el 26 de Septiembre de 2018, se incorporan cada una a manera de referencia en su totalidad.

Con respecto a una mitorriboscina como un agente terapéutico, el agente puede ser una mitorribociclina, una mitorribomicina, una mitorribosporina y/o una mitorribofloxina. Los siguientes compuestos (o sales farmacéuticamente
 15 aceptables de los mismos) son ejemplos de agentes que se pueden usar:



donde cada R puede ser el mismo o diferente y se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, carbono, nitrógeno, azufre, oxígeno, flúor,
 25 cloro, bromo, yodo, carboxilo, alcanos, alcanos cíclicos, derivados basados en

alcanos, alquenos, alquenos cíclicos, derivados basados en alquenos, alquinos, derivados basados en alquinos, cetonas, derivados basados en cetonas, aldehídos, derivados basados en aldehídos, ácidos carboxílicos, derivados basados en ácidos carboxílicos, éteres, derivados basados en éteres, ésteres y

5 derivados basados en ésteres, aminas, derivados basados en aminos, amidas, derivados basados en amidas, areno monocíclico o policíclico, heteroarenos, derivados basados en arenos, derivados basados en heteroarenos, fenoles, derivados basados en fenoles, ácido benzoico, derivados basados en ácido benzoico y una o más señales de fijación como objetivo mitocondrial. Para

10 aclaración, las señales de fijación como objetivo mitocondrial se definen como cualquier entidad química o peptídica que incremente la eficiencia de la fijación como objetivo de la molécula unida a las mitocondrias. Se esperaría que esta modificación incremente la potencia y efectividad de una mitorriboscina. De esta manera, R puede ser cualquier señal de fijación como objetivo mitocondrial

15 (peptídica o química), que incluye compuestos catiónicos, tales como tri-fenil-fosfonio (TPP), una porción basada en guanidinio y/o ésteres de colina, entre otros.

El agente terapéutico puede comprender uno o más de cualquiera o ambos de un inhibidor del metabolismo oxidante y un inhibidor del

20 metabolismo glucolítico. Por ejemplo, un inhibidor del metabolismo oxidante puede ser un miembro de la familia de tetraciclina y la familia de eritromicina. Los miembros de la familia de tetraciclina incluyen tetraciclina, doxiciclina, tigeciclina, minociclina, clortetraciclina, oxitetraciclina, demeclociclina, limeciclina, meclociclina, metaciclina, rolitetraciclina, clortetraciclina,

25 omadaciclina y sareciclina. Los miembros de la familia de eritromicina incluyen

eritromicina, azitromicina y claritromicina. Los inhibidores del metabolismo glicolítico se pueden seleccionar de inhibidores de la glicólisis, inhibidores de la OXPHOS e inhibidores de la autofagia. Los inhibidores de la glicólisis incluyen 2-desoxi-glucosa, ácido ascórbico y estiripentol. Los inhibidores de la OXPHOS
5 incluyen atoravacuona, irinotecan, sorafenib, niclosamida y cloruro de berberina. Los inhibidores de la autofagia incluyen cloroquina.

Se debe apreciar que uno o más derivados de TPP pueden ser el ingrediente activo en una composición farmacéutica. Por ejemplo, el derivado de TPP puede ser 2-buten-1,4-bis-TPP; derivados de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-
10 clorobencil-TPP; derivados de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; derivados de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; derivados de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; derivados de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y derivados de p-xililenbis-TPP. Aquellas personas de experiencia ordinaria en el campo apreciarán que un "derivado" de un derivado de TPP es un compuesto
15 formado a partir del derivado de TPP identificado, y puede incluir análogos estructurales. La composición y/o el compuesto de derivado de TPP puede estar en forma de una tableta, píldora, polvo, líquido, suspensión, emulsión, gránulo, cápsula, supositorio, preparación para inyección, solución, suspensión y/o una crema tópica. La composición farmacéutica puede incluir un agente
20 terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial. El agente terapéutico se puede enlazar covalentemente al derivado de TPP.

Además de las células cancerosas a granel y las CSCs, se debe apreciar que los compuestos de derivados de TPP se pueden usar para fijar como objetivo una subpoblación de células hiperproliferativas que los inventores
25 refieren como células madre cancerosas energéticas (e-CSCs, por sus siglas en

inglés). Las e-CSCs muestran incrementos progresivos en los marcadores de estaminalidad (actividad de ALDH y actividad de formación de mamóferas), masa mitocondrial sumamente elevada y actividad glicolítica y mitocondrial incrementada.

- 5 También se debe apreciar que los compuestos de derivados de TPP también pueden tener propiedades antibióticas y/o anti-senescencia, entre otros usos valiosos. Por ejemplo, un derivado de TPP se puede usar para reducir o eliminar una enfermedad asociada con la edad tal como aterosclerosis, enfermedad cardiovascular, cáncer, artritis, cataratas,
10 osteoporosis, diabetes tipo 2, obesidad, síndrome metabólico, hipertensión, enfermedad de Alzheimer, inflamación crónica, neuro-degeneración, pérdida de volumen muscular (sarcopenia), pérdida de elasticidad de la piel, encanecimiento, calvicie de patrón masculino, manchas de la edad, imperfecciones de la piel y queratosis. Los derivados de TPP también se
15 pueden usar para prevenir el fenotipo secretor asociado con la senescencia. En estas modalidades, el derivado de TPP se puede administrar con un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial. La modalidad puede tomar la forma de una composición farmacéutica que tiene por lo menos un derivado de TPP y por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.
20 El agente terapéutico se puede enlazar covalentemente al(los) derivado(s) de TPP. En estas modalidades, el derivado de TPP se puede administrar con un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial. La modalidad puede tomar la forma de una composición farmacéutica que tiene por lo menos un derivado de TPP y por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-
25 mitocondrial. El agente terapéutico se puede enlazar covalentemente al(los)

derivado(s) de TPP.

Dependiendo del agente terapéutico, los métodos y las composiciones como se describen en este documento también pueden tener actividad de radiosensibilización, actividad de fotosensibilización y/o pueden sensibilizar las células cancerosas a uno o más de agentes quimioterapéuticos, sustancias naturales y/o restricción calórica. Las modalidades también pueden ser útiles para tratar una infección bacteriana, infección por levadura patógena y envejecimiento. Por ejemplo, el agente terapéutico químicamente modificado también puede tener actividad antiviral mejorada, actividad antibacteriana mejorada y/o actividad antimicrobiana mejorada. De esta manera, las modalidades del presente planteamiento también se pueden usar para fijar como objetivo la replicación viral, para prevenir o reducir el crecimiento de bacterias, levaduras y parásitos patógenos, para superar la resistencia a fármacos en bacterias (por ejemplo, Staph. Aureus resistente a meticilina o MSRA).

Los derivados de TPP también se pueden usar para reducir los efectos del envejecimiento en un organismo; tratar por lo menos uno de aterosclerosis, enfermedad cardiovascular, cáncer, artritis, cataratas, osteoporosis, diabetes tipo 2, obesidad, síndrome metabólico, hipertensión y enfermedad de Alzheimer; incrementar la esperanza de vida; promover la reparación y regeneración de tejidos; y reducir la inflamación asociada con el envejecimiento.

La terminología usada en la descripción de la invención en este documento es únicamente con el propósito de describir modalidades particulares y no se pretende que sea limitante de la invención. Como se usa en

la descripción de la invención y las reivindicaciones adjuntas, se pretende que las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyan también las formas plurales, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. La invención incluye numerosas alternativas, modificaciones y equivalentes como resultará
5 evidente a partir de la consideración de la siguiente descripción detallada.

Se entenderá que aunque los términos "primero", "segundo", "tercero", "a)", "b)" y "c)", etcétera, se pueden usar en este documento para describir varios elementos de la invención éste no debe ser limitada por estos términos. Estos términos solo se usan para distinguir un elemento de la
10 invención de otro. De esta manera, un primer elemento planteado posteriormente podría ser denominado un aspecto de elemento, y similarmente, un tercero sin apartarse de las enseñanzas de la presente invención. De esta manera, no se pretende que los términos "primero", "segundo", "tercero", "a)", "b)" y "c)", etcétera, transmitan necesariamente una secuencia u otra jerarquía a
15 los elementos asociados, sino que se usan únicamente para fines de identificación. La secuencia de operaciones (o pasos) no está limitada al orden presentado en las reivindicaciones.

A menos que se definan de otra manera, todos los términos (inclusive términos técnicos y científicos) usados en este documento tienen el
20 mismo significado que aquel entendido comúnmente por una persona de experiencia ordinaria en el campo al cual pertenece esta invención. Se entenderá además que los términos, tales como aquellos definidos en diccionarios usados comúnmente, se deben interpretar como que tienen un significado que es coherente con su significado en el contexto de la presente
25 solicitud y la técnica relevante y no se deben interpretar en un sentido

idealizado o excesivamente formal a menos que así se defina expresamente en este documento. La terminología usada en la descripción de la invención en este documento es con el fin de describir únicamente modalidades particulares y no se pretende que sea limitante de la invención. Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras referencias mencionadas en este documento se incorporan a manera de referencia en su totalidad. En caso de conflicto en la terminología, la presente especificación prevalece.

También como se usa en este documento, "y/o" se refiere a y comprende todas y cada una de las posibles combinaciones de uno o más de los elementos listados asociados, así como también la falta de combinaciones cuando se interpreta en la alternativa ("o").

A menos que el contexto indique lo contrario, se pretende específicamente que las diversas cualidades de la invención descritas en este documento se puedan usar en cualquier combinación. Por otra parte, la presente invención también contempla que, en algunas modalidades de la invención, cualquier cualidad o combinación de cualidades expuestas en este documento se puede excluir u omitir. Para ilustrar, si la especificación establece que un complejo comprende los componentes A, B y C, se pretende específicamente que cualquiera de A, B o C, o una combinación de los mismos, se pueda omitir y desconocer.

Como se usa en este documento, la frase de transición "que consiste esencialmente de" (y variantes gramaticales) se debe interpretar como que comprende los materiales o pasos expuestos "y aquellos que no afectan materialmente la(s) característica(s) básica(s) y novedosa(s)" de la invención reclamada. De esta manera, el término "que consiste esencialmente de" como

se usa en este documento no se debe interpretar como equivalente de "que comprende". Se pretende que el término "aproximadamente", como se usa en este documento cuando se hace referencia a un valor medible, tal como, por ejemplo, una cantidad o una concentración y similares, comprenda variaciones de $\pm 20\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0.5\%$, o incluso $\pm 0.1\%$ de la cantidad especificada. Un intervalo proporcionado en este documento para un valor medible puede incluir cualquier otro intervalo y/o valor individual en el mismo.

Habiendo descrito de esta manera ciertas modalidades de la presente invención, se debe entender que la invención definida por las reivindicaciones adjuntas no debe ser limitada por detalles particulares expuestos en la descripción anterior ya que muchas variaciones aparentes de la misma son posibles sin apartarse del espíritu o alcance de la misma como se reclama a continuación.

15

20

25

REIVINDICACIONES

1. Un método para tratar por lo menos una recurrencia de tumor, metástasis, resistencia a fármacos y resistencia a radioterapia, el método está caracterizado porque comprende administrar una cantidad
5 farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP y por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de derivado de TPP comprende 2-buten-1,4-bis-TPP.

10 3. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de derivado de TPP comprende por lo menos uno de: un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-
15 TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

4. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque por lo menos el agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial comprende por lo menos uno de un antibiótico, producto
20 quimioterapéutico, producto nutracéutico, inhibidor de la biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxacina, inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

5. Un método para prevenir por lo menos uno de recurrencia
25 de tumor, metástasis, resistencia a fármacos y resistencia a radioterapia, el

método está caracterizado porque comprende administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP y por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

6. El método de conformidad con la reivindicación 5, 5 caracterizado porque el compuesto de derivado de TPP comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-
10 xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

7. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque por lo menos el agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial comprende por lo menos uno de un antibiótico, producto quimioterapéutico, producto nutracéutico, inhibidor de la biogénesis
15 mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxa, inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

8. Un método para tratar el cáncer, el método está caracterizado porque comprende administrar una cantidad farmacéuticamente
20 efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP y por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

9. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP comprende por lo menos uno de 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-
25 buteno-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-

metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

10. El método de conformidad con la reivindicación 8,
5 caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP comprende 2-buten-1,4-bis-TPP.

11. El método de conformidad con la reivindicación 8,
caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP fija como
objetivo selectivamente por lo menos una célula cancerosa a granel, CSCs y
10 células madre cancerosas energéticas.

12. El método de conformidad con la reivindicación 11,
caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP fija como
objetivo selectivamente células senescentes normales.

13. El método de conformidad con la reivindicación 8,
15 caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP no es
tóxico para células saludables normales.

14. El método de conformidad con la reivindicación 8,
caracterizado porque por lo menos el agente terapéutico que tiene un efecto
anti-mitocondrial comprende por lo menos uno de un antibiótico, inhibidor de la
20 biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina,
mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxa, inhibidor del metabolismo
oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

15. El método de conformidad con la reivindicación 14,
caracterizado porque el inhibidor del metabolismo glicolítico comprende por lo
25 menos uno de un inhibidor de la glicólisis, un inhibidor de la OXPHOS y un

inhibidor de la autofagia.

16. Una composición, caracterizada porque comprende, como su ingrediente activo, por lo menos un compuesto de derivado de TPP y por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

5 17. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un
10 derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

18. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP es 2-buten-1,4-bis-TPP.

15 19. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque el ingrediente activo erradica por lo menos uno de células cancerosas a granel, células madre cancerosas, células madre cancerosas energéticas y células senescentes normales.

20 20. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque el compuesto de derivado de TPP no es tóxico hacia células saludables normales.

21. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque la composición posee por lo menos una de actividad radiosensibilizante, actividad fotosensibilizante y actividad para sensibilizar
25 células cancerosas hacia por lo menos uno de agentes quimioterapéuticos,

sustancias naturales y restricción calórica.

22. Un método para dirigir un agente terapéutico hacia las mitocondrias de una célula madre cancerosa, el método está caracterizado porque comprende modificar químicamente el agente terapéutico con por lo
5 menos un compuesto de derivado de TPP.

23. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el agente terapéutico tiene un efecto anti-mitocondrial.

24. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP
10 comprende por lo menos uno de: 2 -buteno-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buteno-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

15 25. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el agente terapéutico modificado químicamente comprende por lo menos una de actividad antiviral mejorada, actividad antibacteriana mejorada y actividad antimicrobiana mejorada.

25. Una composición farmacéutica, caracterizada porque
20 comprende 2-buteno-1,4-bis-TPP y por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

RESUMEN DE LA INVENCION

El tri-fenil-fosfonio (TPP) es una porción química no tóxica que se comporta funcionalmente como una señalización de fijación como objetivo mitocondrial en células vivas. Los compuestos relacionados con TPP se pueden

5 utilizar para fijar como objetivo las mitocondrias en células madre cancerosas (CSCs), y se pueden usar para tratar y/o prevenir la recurrencia de tumores, metástasis, resistencia a fármacos y/o resistencia a radioterapia, así como también para terapias anticancerosas. Varios compuestos relacionados con TPP que son validados para la inhibición del consumo de oxígeno (OCR), no

10 fueron tóxicos y tuvieron poco o ningún efecto sobre la producción de ATP en fibroblastos humanos normales. No obstante estos compuestos fijan como objetivo selectivamente células cancerosas "a granel" adherentes. Estos compuestos también inhiben la propagación de CSCs en suspensión. Los compuestos relacionados con TPP proporcionan una estrategia química

15 novedosa para fijar como objetivo de manera efectiva tanto i) células cancerosas "a granel" como ii) CSC, mientras que minimizan o evitan específicamente efectos secundarios distintos a lo deseado en células normales, entre otras terapias útiles.

20

25

REIVINDICACIONES MODIFICADAS BAJO ART. 34

1. Un método para tratar por lo menos uno de recurrencia de tumores y metástasis, resistencia a fármacos y resistencia a la radioterapia, el método está caracterizado porque comprende administrar una cantidad
5 farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-
10 naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de derivado de TPP comprende 2-buten-1,4-bis-TPP.

3. El método de conformidad con la reivindicación 1,
15 caracterizado porque comprende además por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

4. El método de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque por lo menos el agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial comprende por lo menos uno de un antibiótico, producto
20 quimioterapéutico, producto nutracéutico, inhibidor de la biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxacina, inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

5. Un método para prevenir por lo menos uno de recurrencia de
25 tumores y metástasis, resistencia a fármacos y resistencia a la radioterapia, el

método está caracterizado porque comprende administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-
5 metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

6. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque comprende además por lo menos un agente terapéutico
10 que tiene un efecto anti-mitocondrial.

7. El método de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque por lo menos el agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial comprende por lo menos uno de un antibiótico, producto quimioterapéutico, producto nutracéutico, inhibidor de la biogénesis
15 mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxacina, inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

8. Un método para tratar el cáncer, el método está caracterizado porque comprende administrar una cantidad farmacéuticamente
20 efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-
25 xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

9. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque comprende además por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

10. El método de conformidad con la reivindicación 8,
5 caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP comprende 2-buten-1,4-bis-TPP.

11. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP fija como objetivo selectivamente por lo menos una de células cancerosas a granel,
10 CSCs y células madre cancerosas energéticas.

12. El método de conformidad con la reivindicación 11, caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP fija como objetivo selectivamente células senescentes normales.

13. El método de conformidad con la reivindicación 8,
15 caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP no es tóxico para células saludables normales.

14. El método de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque por lo menos el agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial comprende por lo menos uno de un antibiótico, inhibidor de la
20 biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxa, inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

15. El método de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado porque el inhibidor del metabolismo glicolítico comprende por lo
25 menos uno de un inhibidor de la glicólisis, un inhibidor de la OXPHOS y un

inhibidor de la autofagia.

16. Una composición farmacéutica anticancerosa, caracterizada porque comprende por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-
5 buteno-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

17. La composición de conformidad con la reivindicación 16,
10 caracterizada porque comprende además por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

18. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP es 2-buten-1,4-bis-TPP.

15 19. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP erradica por lo menos una de células cancerosas a granel, células madre cancerosas, células madre cancerosas energéticas y células senescentes normales.

20. La composición de conformidad con la reivindicación 16,
20 caracterizada porque el compuesto de derivado de TPP no es tóxico hacia células saludables normales.

21. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque la composición posee por lo menos una de actividad radiosensibilizante, actividad fotosensibilizante y actividad para sensibilizar
25 células cancerosas a por lo menos uno de los agentes quimioterapéuticos,

sustancias naturales y restricción de calor.

22. Un método para dirigir un agente terapéutico a las mitocondrias de células madre cancerosas, el método está caracterizado porque comprende modificar químicamente el agente terapéutico con por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno de: 2-buteno-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buteno-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

23. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el agente terapéutico tiene un efecto anti-mitocondrial.

24. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el agente terapéutico comprende por lo menos uno de un antibiótico, inhibidor de la biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxacina, inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

25. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el agente terapéutico modificado químicamente comprende por lo menos una de actividad antiviral mejorada, actividad antibacteriana mejorada y actividad antimicrobiana mejorada.

26. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende 2-buteno-1,4-bis-TPP y por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

27. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 26, caracterizada porque por lo menos el agente terapéutico comprende por lo menos uno de un antibiótico, inhibidor de la biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, 5 mitorribosporina, mitorribofloxina, inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT
OF DEMAND BY COMPETENT INTERNATIONAL
PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

(PCT Rules 59.3(e) and 61.1(b), first sentence
and Administrative Instructions, Section 601(a))

To:

JOSHUA B. BRADY
NIXON & VANDERHYE P.C.
901 NORTH GLEBE ROAD, 11TH FLOOR
ARLINGTON, VIRGINIA 22203-1808

Date of mailing
(day/month/year)

07 Oct 2019

Applicant's or agent's file reference

JBB-6814-0043

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/US2018/062174

International filing date (day/month/year)

21 Nov 2018

Priority date (day/month/year)

24 Nov 2017

Applicant

LUNELLA BIOTECH, INC.

1. The applicant is hereby **notified** that this International Preliminary Examining Authority considers the following date as the date of receipt of the demand for international preliminary examination of the international application:

23 Sep 2019

2. That date of receipt is:



the actual date of receipt of the demand by this Authority (Rule 61.1(b)).



the actual date of receipt of the demand on behalf of this Authority (Rule 59.3(e)).



the date on which this Authority has, in response to the invitation to correct defects in the demand (Form PCT/IPEA/404), received the required corrections.

3. ☐ **ATTENTION:** That date of receipt is **after** the expiration of 19 months from the priority date. Consequently, in respect of some Offices, the demand does not have the effect of postponing the entry into the national phase until 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) and the acts for entry into the national phase must therefore be performed within 20 months from the priority date (or later in some Offices). **However**, in respect of some other Offices, the time limit of 30 months (or later) may nevertheless apply. See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.



(If applicable) This notification confirms the information given by telephone, facsimile transmission or in person on:

4. Only where paragraph 3 applies, a copy of this notification has been sent to the International Bureau.

Name and mailing address of the IPEA/

Mail Stop PCT, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Michael Fletcher

Telephone No. 571-272-9069

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent, with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/ US

PCT

CHAPTER II

Demand

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty:

The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty

For International Preliminary Examining Authority use only

Identification of IPEA

Date of receipt of DEMAND

Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION

Applicant's or agent's file reference
JBB-6814-0043

International application No.
PCT/US2018/062174

International filing date (day/month/year)
21 November 2018

(Earliest) Priority date (day/month/year)
24 November 2017

Title of invention

TRIPHENYLPHOSPHONIUM-DERIVATIVE COMPOUNDS FOR ERADICATING CANCER STEM CELLS

Box No. II APPLICANT(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

LUNELLA BIOTECH, INC.
145 Richmond Road
Ottawa , ON K1Z 1A1
Canada

Telephone No:

Facsimile No.:

Applicant's registration No. with the Office

E-mail authorization: marking one of the check-boxes below authorizes the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send notifications issued in respect of this international application if those offices are willing to do so.

☒ as advance copies followed by paper notifications; or ☐ exclusively in electronic form (no paper notifications will be sent)
E-mail address: **NV-FOREIGN-DOCKETING@NIXONVAN.COM**

State (that is, country) of nationality: CA

State (that is, country) of residence: CA

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

LISANTI, Michael P.
8115 Maple Lawn Blvd
Suite 350, Office 324
Fulton, Maryland 20759
United States of America

State (that is, country) of nationality: US

State (that is, country) of residence: US

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

SOTGIA, Federica
8115 Maple Lawn Blvd
Suite 350, Office 324
Fulton, Maryland 20759
United States of America

State (that is, country) of nationality: US

State (that is, country) of residence: US

☐ Further applicants are indicated on a continuation sheet.

Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The following person is ☒ agent ☐ common representative

and ☒ has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination.

☐ is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked.

☐ is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlier.

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation.
The address must include postal code and name of country.)*

BRADY, Joshua B.
NIXON & VANDERHYE P.C.
901 North Glebe Road, 11th Floor
Arlington, Virginia 22203-1808
United States of America

Telephone No:
703-816-4000

Facsimile No.:
703-816-4100

Agent's registration No. with the Office
68,190

E-mail authorization: Marking one of the check-boxes below authorizes the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send notifications issued in respect of this international application if those offices are willing to do so.

☒ as advance copies followed by paper notifications; or ☐ exclusively in electronic form (no paper notifications will be sent)
E-mail address: **NV-FOREIGN-DOCKETING@NIXONVAN.COM**

☐ **Address for correspondence:** Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No. IV BASIS FOR INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION**Statement concerning amendments:***

1. The applicant wishes the international preliminary examination **to start on the basis of:**
 - the description ☒ as originally filed, or ☐ as amended under Article 34
 - the sequence listing ☐ as originally filed, or ☐ as amended under Article 34
 - ☐ in the form of an Annex C/ST .25 text file
 - ☐ on paper or in the form of an image file
 - the claims ☐ as originally filed, or ☐ as amended under Article 19, and/or ☒ as amended under Article 34
 - the drawings ☒ as originally filed, or ☐ as amended under Article 34
 2. ☐ The applicant wishes any amendment to the claims under Article 19 to be considered as reversed.
 3. ☐ Where the IPEA wishes to start the international preliminary examination at the same time as the international search in accordance with Rule 69.1(b), the applicant requests the IPEA **to postpone** the start of the international preliminary examination until the expiration of the applicable time limit under Rule 69.1(d).
 4. ☐ The applicant expressly wishes the international preliminary examination **to start earlier** than at the expiration of the applicable time limit under Rule 54bis.1(a).
- * Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Language for the purposes of international preliminary examination: English

☒ Which is the language in which the international application was filed.

☐ Which is the language of a translation furnished for the purposes of international search.

☐ Which is the language of publication of the international application.

☐ Which is the language of the translation (to be) furnished for the purposes of international preliminary examination.

Box No. V ELECTION OF STATES

The filing of this demand constitutes the election of all Contracting States which are designated and are bound by Chapter II of the PCT.

Box No. VI CHECK LIST

The demand is accompanied by the following elements, in the language referred to in Box No. IV, for the purposes of international preliminary examination:

- | | | | | |
|----|---|---|---|--------|
| 1. | translation of international application | : | | sheets |
| 2. | amendments under Article 34 | : | 4 | sheets |
| 3. | letter accompanying the amendments under Article 34 (rule 66.8) | : | 2 | sheets |
| 4. | copy (or, where required, translation) of amendments under Article 19 | : | | sheets |
| 5. | copy of the letter accompanying the amendments under Article 19 (Rules 46.5(b) and 53.9) | : | | sheets |
| 6. | copy (or, where applicable) translation of any statement under Article 19 (Rule 62.1(ii)) | : | | sheets |
| 7. | Other: Comments in response to ISR/WO | : | 3 | sheets |

For International Preliminary
Examining Authority use only

received not received

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |

The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

- | | |
|--|---|
| 1. ☒ fee calculation sheet | 5. ☐ sequence listing in the form of an Annex C/ST .25 text file |
| 2. ☐ original separate power of attorney | 6. ☐ other (specify): |
| 3. ☐ original general power of attorney | |
| 4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any: | |

Box No. VII SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the demand).

/Joshua B. Brady/

Joshua B. Brady
Reg. No. 68,190

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

2. Adjusted date of receipt of the demand due to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply.

☐ The applicant has been informed accordingly.

4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the time limit of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5.

5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82 or 82quater.

6. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of the time limit under Rule 54bis.1(a) and item 7 or 8, below, does not apply.

7. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the time limit under Rule 54bis.1(a) as extended by virtue of Rule 80.5.

8. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of the time limit under Rule 54bis.1(a), the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82 or 82quater.

For International Bureau use only

Demand received from IPEA on:

PCT

FEE CALCULATION SHEET

Annex to the Demand

International application No. PCT/US2018/062174	For International Preliminary Examining Authority use only			
Applicant's or agent's file reference JBB-6814-0043	Date stamp of the IPEA			
Applicant LUNELLA BIOTECH, INC. et al				
CALCULATION OF PRESCRIBED FEES <i>(Applicants may be entitled to a reduction of the preliminary examination fee and the handling fee as indicated in the PCT Fee Tables (http://www.wipo.int/pct/en/fees.pdf))</i>				
1. PRELIMINARY EXAMINATION FEE			300.00	P
2. HANDLING FEE			.203.00	H
3. TOTAL OF PRESCRIBED FEES Add the amounts entered at P and H and enter total in the TOTAL box			USD \$503.00 TOTAL	
MODE OF PAYMENT <i>(Not all modes of payment may be available at all IPEAs)</i>				
☒ credit card <i>(details should not be included in this sheet)</i> ☐ postal money order ☐ authorization to charge deposit or current account with the IPEA (see below) ☐ check ☐ bank transfer ☐ revenue stamps ☐ cash ☐ other <i>(specify):</i>				
AUTHORIZATION TO CHARGE (OR CREDIT) DEPOSIT OR CURRENT ACCOUNT <i>(This mode of payment may not be available at all IPEAs)</i>				
☐ Authorization to charge the total fees indicated above. IPEA/US Deposit or current Account No.: 14-1140				
☒ <i>(This check-box may be marked only if the conditions for deposit or current accounts of the IPEA so permit). Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.</i> Date: <u>September 23, 2019</u> Name: <u>Joshua B. Brady</u> Signature: <u>/Joshua B. Brady/</u>				

BEFORE THE WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION

Applicants: LUNELLA BIOTECH, INC. et al.

International Application No. PCT/US2018/062174 Our Ref.: JBB-6814-0043

International Filing Date: November 21, 2018

Title: TRIPHENYLPHOSPHONIUM-DERIVATIVE COMPOUNDS FOR ERADICATING
CANCER STEM CELLS

September 23, 2019

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

**COMMENTS IN RESPONSE TO INTERNATIONAL
SEARCH REPORT AND WRITTEN OPINION**

In response to the International Search Report and Written Opinion dated March 22, 2019 (“ISR/WO”), and within the time limits allowed, Applicants respectfully provide the following comments in connection with the replacement claims as amended under Article 34. Applicants request that the replacement claims be considered in connection with this Response, and that the written opinion of the International Preliminary Examining Authority address the Applicants’ replacement claims and Response.

Applicants appreciate the indication in the ISR/WO that original claims 2, 3, 6, 9-10, 17-18, 24, and 26 satisfy the criteria of PCT Article 33(1)-(3). Applicants’ amended claims incorporate the patentable subject matter into the independent claims. The reasoning set forth in the ISR/WO with respect to those claims should therefore remain applicable to the amended claims. For at least the reasons discussed herein, and the ISR/WO’s basis for finding certain claims patentable, Applicants respectfully assert that all of pending claims 1-27, as amended under Article 34, satisfy the criteria of the criteria of PCT Article 33(1)-(3).

This application discloses, *inter alia*, a novel set of TPP-derivative compounds that target cancer stem cells (CSCs), and inhibit CSC propagation. As amended, Applicants’ independent claims 1, 5, 8, 16, and 22, are amended to list particular TPP-derivative compounds in the claimed anti-cancer methods and compositions: 2-butene-1,4-bis-TPP; a derivative of 2-butene-1,4-bis-TPP; 2-

chlorobenzyl-TPP; a derivative of 2-chlorobenzyl-TPP; 3-methylbenzyl-TPP; a derivative of 3-methylbenzyl-TPP; 2,4-dichlorobenzyl-TPP; a derivative of 2,4-dichlorobenzyl-TPP; 1-naphthylmethyl-TPP; a derivative of 1-naphthylmethyl-TPP; p-xylylenebis-TPP; and a derivative of p-xylylenebis-TPP. Original claims 3, 6, 9, 17, and 24 recited these TPP-derivative compounds, and the ISR/WO concluded that these claims (and others) are patentable over the prior art of record. Those conclusions should apply to the amended claims, at least because the art of record fails to disclose or suggest the recited TPP-derivative compounds as anti-cancer therapeutics.

The ISR/WO described the deficiencies in the prior art on page 5-6. For example, the ISR/WO considered U.S. Patent Publication 2010/0105794 A1 to Dietliker et al. (“Dietliker”), which relates to photochemically preparing amidine derivatives. Dietliker lists numerous Wittig reagents in paragraph [0121], including 2-butene-1,4-bis-TPP.¹ The reference is silent on using any of the disclosed compounds, including the Wittig reagents, as anti-cancer therapeutics. Indeed, as the ISR/WO noted on page 6, Dietliker’s focus on photoactivatable nitrogen base salts is an entirely different field than Applicants’ disclosure, and the other references discussed. As a result, the ISR/WO found various original claims patentable over the art of record.

Those conclusions should apply to the amended claims, at least because the independent claims now recite Applicants’ TPP-derivative compounds. The Silva publication, for instance, focuses on gallic acid derivatives, TPP⁺C₈, TPP⁺C₁₀, and TPP⁺C₁₂. *See, e.g.*, Silva at Abstract. As such, Silva provides no suggestion that other TPP compounds may have efficacy as anti-cancer therapeutics. International Patent Application Publication WO 2016/155679 A1 to Neuzil et al. (“KKCG”) describes TPP biguanide analogs, in which the basic TPP moiety is unchanged. *See, e.g.*, KKCG general formula II. Similarly, European Patent Publication 3,124,027 to Balczewski et al. (“Badan”) describes TPP salts, in which the TPP moiety is unchanged. *See, e.g.*, Badan formula 1. International Patent Application Publication WO 2014/124384 A1 to Schultz et al. (“Iowa”) describes compositions including a TPP moiety, and does not disclose or suggest the claimed TPP-derivatives. International Patent Application Publication WO 2014/0228290 A1 to Spitz et al. (“Spitz”) describes X-TPP compositions, but as found on page 6 of the ISR/WO, Spitz does not disclose or suggest the claimed TPP-derivatives.

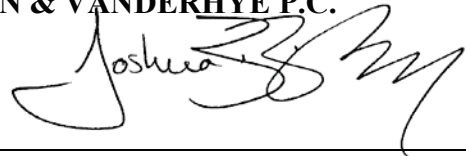
¹ The Wittig reaction involves an aldehyde or ketone and a triphenyl phosphonium ylide, to generate an alkene and triphenylphosphine oxide.

Applicants' amended claims therefore incorporate the subject matter that the ISR/WO concluded was patentably distinct over the references of record, and the prior art fails to teach or suggest claims 1-27. The replacement claims are, at least for the reasons discussed above, patentable over the prior art of record. Applicants respectfully request that the International Preliminary Examining Authority confirm that the pending claims satisfy the criteria of PCT Article 33(1)-(3). Should a telephone call facilitate further prosecution, the Office is invited to call the undersigned at the number listed below.

Respectfully submitted,

NIXON & VANDERHYE P.C.

By:

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Joshua B. Brady", written over a horizontal line.

Joshua B. Brady
Reg. No. 68,190

Enclosures:
Replacement Sheets
Demand

Nixon & Vanderhye, P.C.
901 North Glebe Road, 11th Floor
Arlington, VA 22203-1808
Telephone: (703) 816-4000
Facsimile: (703) 816-4100

BEFORE THE WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION

Applicants: LUNELLA BIOTECH, INC. et al.

International Application No. PCT/US2018/062174 Our Ref.: JBB-6814-0043

International Filing Date: November 21, 2018

Title: TRIPHENYLPHOSPHONIUM-DERIVATIVE COMPOUNDS FOR ERADICATING
CANCER STEM CELLS

September 23, 2019

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

AMENDMENT UNDER PCT ARTICLE 34
EXPLANATORY LETTER

In response to the International Search Report and Written Opinion dated March 22, 2019 (“ISR/WO”), and within the time limits allowed, Applicants respectfully provide the attached Replacement Claims as amended under Article 34. Attached are four (4) new sheets of replacement claims to replace the claims on pages 25-27 of the originally filed application. Applicants provide the following description of amendments made under Article 34. No new matter has been added.

Claim 1 is amended. Claim 2 is unchanged. Claim 3-7 are amended. Claims 8 and 9 are amended. Claims 10-13 are unchanged. Claim 14 is amended. Claim 15 is unchanged. Claims 16 and 17 are amended. Claims 18, 20, and 21 are unchanged. Claim 19 is amended. Claim 22 is amended. Claim 23 is unchanged. Claim 24 is amended. Claim 25 is unchanged. Claim 26 is amended. Claim 27 is new. The basis for the new claims may be found in the original claims and throughout the original Specification. A demonstrative basis for the new claims is as follows.

- Claims 1, 5, 8, 16, and 22, are amended to list TPP-derivative compounds. The basis may be found in paragraphs [0042] and [0045] of the Specification, and the original claims.
- Claims 3, 6, 9, and 17 are amended to recite at least one therapeutic agent having an anti-mitochondrial effect. The basis may be found in paragraphs [0015], [0053], and [0058] of the Specification, and the original claims.

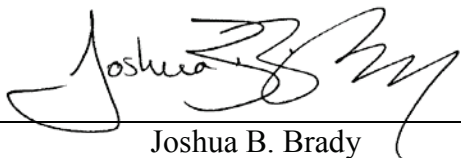
- Claim 4 is amended to depend from claim 3. Support may be found in at least the original claims.
- Claim 7 is amended to depend from claim 6. Support may be found in at least the original claims.
- Claims 9 and 10 are amended for consistency with their respective base claims. The basis for amendments to claims 9 and 10 may be found in original claims 8 and 9, and paragraph [0041] of the Specification.
- Claim 14 is amended to depend from claim 9. Support may be found in at least the original claims.
- Claim 19 is amended for consistency with claim 17.
- Claim 24 is amended to list therapeutic agents. The basis may be found in paragraph [0053] of the Specification, and original claims 4, 7, and 14.
- Claim 26 is the result of renumbering a duplicative claim 25.
- New claim 27 recites therapeutic agents. The basis may be found in paragraph [0053] of the Specification, and original claims 4, 7, and 14.

The original Specification provides support for the Replacement Claims, and no new matter has been added. Should a telephone call facilitate further prosecution, the Office is invited to call the undersigned at the number listed below.

Respectfully submitted,

NIXON & VANDERHYE P.C.

By:



Joshua B. Brady
Reg. No. 68,190

Enclosures:
Replacement Sheets
Demand
Response to ISR/WO

Nixon & Vanderhye, P.C.
901 North Glebe Road, 11th Floor
Arlington, VA 22203-1808
Telephone: (703) 816-4000
Facsimile: (703) 816-4100

REPLACEMENT CLAIMS

What is claimed is:

1. A method for treating at least one of tumor recurrence and metastasis, drug resistance, and radiotherapy resistance, the method comprising administering a pharmaceutically effective amount of at least one TPP-derivative compound comprising at least one of: 2-butene-1,4-bis-TPP; a derivative of 2-butene-1,4-bis-TPP; 2-chlorobenzyl-TPP; a derivative of 2-chlorobenzyl-TPP; 3-methylbenzyl-TPP; a derivative of 3-methylbenzyl-TPP; 2,4-dichlorobenzyl-TPP; a derivative of 2,4-dichlorobenzyl-TPP; 1-naphthylmethyl-TPP; a derivative of 1-naphthylmethyl-TPP; p-xylylenebis-TPP; and a derivative of p-xylylenebis-TPP.

2. The method of claim 1, wherein the TPP-derivative compound comprises 2-butene-1,4-bis-TPP.

3. The method of claim 1, further comprising at least one therapeutic agent having an anti-mitochondrial effect.

4. The method of claim 3, wherein the at least one therapeutic agent having an anti-mitochondrial effect comprises at least one of an antibiotic, a chemotherapeutic, a nutraceutical, a mitochondrial biogenesis inhibitor, a mitoriboscin, a mitoketoscin, a mitoribocycline, a mitoribomycin, a mitoribosporin, a mitoribofloxin, an oxidative metabolism inhibitor, and a glycolytic metabolism inhibitor.

5. A method for preventing at least one of tumor recurrence and metastasis, drug resistance, and radiotherapy resistance, the method comprising administering a pharmaceutically effective amount of at least one TPP-derivative compound comprising at least one of: 2-butene-1,4-bis-TPP; a derivative of 2-butene-1,4-bis-TPP; 2-chlorobenzyl-TPP; a derivative of 2-chlorobenzyl-TPP; 3-methylbenzyl-TPP; a derivative of 3-methylbenzyl-TPP; 2,4-dichlorobenzyl-TPP; a derivative of 2,4-dichlorobenzyl-TPP; 1-naphthylmethyl-TPP; a derivative of 1-naphthylmethyl-TPP; p-xylylenebis-TPP; and a derivative of p-xylylenebis-TPP.

6. The method of claim 5, further comprising at least one therapeutic agent having an anti-mitochondrial effect.

7. The method of claim 6, wherein the at least one therapeutic agent having an anti-mitochondrial effect comprises at least one of an antibiotic, a chemotherapeutic, a nutraceutical, a mitochondrial biogenesis inhibitor, a mitoriboscin, a mitoketoscin, a mitoribocycline, a

mitoribomycin, a mitoribosporin, a mitoribofloxin, an oxidative metabolism inhibitor, and a glycolytic metabolism inhibitor.

8. A method for treating cancer, the method comprising administering a pharmaceutically effective amount of at least one TPP-derivative compound comprising at least one of: 2-butene-1,4-bis-TPP; a derivative of 2-butene-1,4-bis-TPP; 2-chlorobenzyl-TPP; a derivative of 2-chlorobenzyl-TPP; 3-methylbenzyl-TPP; a derivative of 3-methylbenzyl-TPP; 2,4-dichlorobenzyl-TPP; a derivative of 2,4-dichlorobenzyl-TPP; 1-naphthylmethyl-TPP; a derivative of 1-naphthylmethyl-TPP; p-xylylenebis-TPP; and a derivative of p-xylylenebis-TPP.

9. The method of claim 8, further comprising at least one therapeutic agent having an anti-mitochondrial effect.

10. The method of claim 8, wherein the at least one TPP-derivative compound comprises 2-butene-1,4-bis-TPP.

11. The method of claim 8, wherein the at least one TPP-derivative compound selectively targets at least one of bulk cancer cells, CSCs, and energetic cancer stem cells.

12. The method of claim 11, wherein the at least one TPP-derivative compound selectively targets normal senescent cells.

13. The method of claim 8, wherein the at least one TPP-derivative compound is non-toxic to normal healthy cells.

14. The method of claim 9, wherein the at least one therapeutic agent having an anti-mitochondrial effect comprises at least one of an antibiotic, a mitochondrial biogenesis inhibitor, a mitoriboscin, a mitoketoscin, a mitoribocycline, a mitoribomycin, a mitoribosporin, a mitoribofloxin, an oxidative metabolism inhibitor, and a glycolytic metabolism inhibitor.

15. The method of claim 14, wherein the glycolytic metabolism inhibitor comprises at least one of a glycolysis inhibitor, an OXPHOS inhibitor, and an autophagy inhibitor.

16. An anti-cancer pharmaceutical composition comprising at least one TPP-derivative compound comprising at least one of: 2-butene-1,4-bis-TPP; a derivative of 2-butene-1,4-bis-TPP; 2-chlorobenzyl-TPP; a derivative of 2-chlorobenzyl-TPP; 3-methylbenzyl-TPP; a derivative of 3-methylbenzyl-TPP; 2,4-dichlorobenzyl-TPP; a derivative of 2,4-dichlorobenzyl-TPP; 1-naphthylmethyl-TPP; a derivative of 1-naphthylmethyl-TPP; p-xylylenebis-TPP; and a derivative of p-xylylenebis-TPP.

17. The composition of claim 16, further comprising at least one therapeutic agent having an anti-mitochondrial effect.

18. The composition of claim 16, wherein the at least one TPP-derivative compound is 2-butene-1,4-bis-TPP.

19. The composition of claim 16, wherein the at least one TPP-derivative compound eradicates at least one of bulk cancer cells, cancer stem cells, energetic cancer stem cells, and normal senescent cells.

20. The composition of claim 16, wherein the TPP-derivative compound is non-toxic towards normal healthy cells.

21. The composition of claim 16, wherein the composition possesses at least one of radiosensitizing activity, photosensitizing activity, and activity to sensitive cancer cells to at least one of chemotherapeutic agents, natural substances, and caloric restriction.

22. A method for targeting a therapeutic agent to a cancer stem cell mitochondria, the method comprising chemically modifying the therapeutic agent with at least one TPP-derivative compound comprising at least one of: 2-butene-1,4-bis-TPP; a derivative of 2-butene-1,4-bis-TPP; 2-chlorobenzyl-TPP; a derivative of 2-chlorobenzyl-TPP; 3-methylbenzyl-TPP; a derivative of 3-methylbenzyl-TPP; 2,4-dichlorobenzyl-TPP; a derivative of 2,4-dichlorobenzyl-TPP; 1-naphthylmethyl-TPP; a derivative of 1-naphthylmethyl-TPP; p-xylylenebis-TPP; and a derivative of p-xylylenebis-TPP.

23. The method of claim 22, wherein the therapeutic agent has an anti-mitochondrial effect.

24. The method of claim 22, wherein the therapeutic agent comprises at least one of an antibiotic, a mitochondrial biogenesis inhibitor, a mitoriboscin, a mitoketoscin, a mitoribocycline, a mitoribomycin, a mitoribosporin, a mitoribofloxin, an oxidative metabolism inhibitor, and a glycolytic metabolism inhibitor.

25. The method of claim 22, wherein the chemically modified therapeutic agent comprises at least one of enhanced anti-viral activity, enhanced anti-bacterial activity, and enhanced anti-microbial activity.

26. A pharmaceutical composition comprising 2-butene-1,4-bis-TPP and at least one therapeutic agent having an anti-mitochondrial effect.

27. The pharmaceutical composition of claim wherein the at least one therapeutic agent comprises at least one of an antibiotic, a mitochondrial biogenesis inhibitor, a mitoriboscin, a mitoketoscin, a mitoribocycline, a mitoribomycin, a mitoribosporin, a mitoribofloxin, an oxidative metabolism inhibitor, and a glycolytic metabolism inhibitor.

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

De: LA ADMINISTRACIÓN DE EXAMEN PRELIMINAR
INTERNACIONAL

Destinatario:

JOSHUA B. BRADY
NIXON & VANDERHYE P.C.
901 NORTH GLEBE ROAD, 11TH FLOOR
ARLINGTON, VIRGINIA 22203-1808

PCT

**NOTIFICACIÓN DE LA RECEPCIÓN DE LA
SOLICITUD DE EXAMEN PRELIMINAR
INTERNACIONAL POR LA ADMINISTRACIÓN
COMPETENTE ENCARGADA DEL EXAMEN
PRELIMINAR INTERNACIONAL**
(Reglas 59.3.e) y 61.1.b), primera frase, e
Instrucción Administrativa 601.a) del PCT)

Fecha de expedición

(día/mes/año)

07 Oct 2019

Referencia del expediente del solicitante o del mandatario

JBB-6814-0043

NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

Solicitud internacional N°

PCT/US2018/062174

Fecha de presentación internacional

(día/mes/año)

21 Nov 2018

Fecha de prioridad (día/mes/año)

24 Nov 2017

Solicitante

LUNELLA BIOTECH, INC.

1. Se **notifica** al solicitante que la Administración encargada del examen preliminar internacional considera la fecha siguiente como la fecha de recepción de la solicitud de examen preliminar internacional de la solicitud internacional:

23 Sep 2019

2. Esta fecha de recepción es

- ☒ la fecha efectiva de recepción de la solicitud de examen preliminar internacional por la Administración (Regla 61.1.b)).
- ☐ la fecha efectiva de recepción de la solicitud de examen preliminar internacional por cuenta de la Administración (Regla 59.3.e)).
- ☐ la fecha en la que la Administración ha recibido las correcciones requeridas, en respuesta al requerimiento para corregir defectos en la solicitud de examen preliminar internacional (formulario PCT/IPEA/404).

3. ☐ **ATENCIÓN:** Esta fecha de recepción es **posterior** al vencimiento del plazo de 19 meses desde la fecha de prioridad. En consecuencia, por lo que respecta a ciertas Oficinas, la solicitud de examen preliminar internacional no tiene el efecto de diferir el comienzo de la fase nacional a 30 meses (o más en algunas Oficinas) desde la fecha de prioridad (Artículo 39.1)), por lo que deben realizarse los actos requeridos para la entrada en la fase nacional en el plazo de 20 meses (o más en algunas Oficinas) desde la fecha de prioridad. **No obstante**, por lo que respecta a algunas otras Oficinas, será aplicable el plazo de 30 meses (o más). Véase el Anexo del formulario PCT/IB/301 y, para mayores detalles en cuanto a los plazos aplicables, Oficina por Oficina, véanse los capítulos nacionales en el Volumen II de la Guía del solicitante PCT y el sitio Internet de la OMPI.

- ☐ (Si procede) La presente notificación confirma las informaciones facilitadas por teléfono, por telecopia o durante una entrevista el:

4. En el caso previsto en el párrafo 3, se ha enviado a la Oficina Internacional una copia de la presente notificación.

Nombre y dirección postal de la Administración encargada
del examen preliminar internacional
Correo PCT, Comisionado de Patentes
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450
N° de fax: 571-273-8300

Funcionario autorizado

Michael Fletcher

N° de teléfono: 571-272-9069

La solicitud de examen preliminar internacional debe presentarse directamente a la Administración encargada del examen preliminar internacional competente o, si son competentes varias Administraciones, a una de ellas, a elección del solicitante. El solicitante puede indicar el nombre completo o el código de dos letras de esa Administración encima de la línea que figura a continuación:

IPEA/ US

PCT

CAPÍTULO II

SOLICITUD DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

según el Artículo 31 del Tratado de Cooperación en materia de Patentes,
el abajo firmante pide que la solicitud internacional especificada a continuación sea objeto
de examen preliminar internacional de conformidad con el Tratado de Cooperación en materia de Patentes.

Para uso de la Administración encargada del examen preliminar internacional únicamente

Administración encargada del examen preliminar internacional	Fecha de recepción de la solicitud de examen preliminar internacional
--	---

Recuadro N° I IDENTIFICACIÓN DE LA SOLICITUD INTERNACIONAL		Referencia al expediente del solicitante o del mandatario JBB-6814-0043
Solicitud internacional N° PCT/US2018/062174	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 21 noviembre 2018	Fecha de prioridad (la más antigua) (día/mes/año) 24 noviembre 2017
Título de la invención COMPUESTOS DE DERIVADOS DE TRIFENILFOSFONIO PARA ERRADICAR CÉLULAS MADRE CANCEROSAS		
Recuadro N° II SOLICITANTE(S)		
Nombre y dirección: (apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país.) LUNELLA BIOTECH, INC. 145 Richmond Road Ottawa, ON K1Z 1A1 Canada		N° de teléfono: N° de facsímil: N° de registro del solicitante en la Oficina:
Autorización a utilizar el correo-e: al marcar una de las casillas que figuran abajo se autoriza a la Oficina Internacional y la Administración encargada del examen preliminar internacional a utilizar la dirección de correo-e que se indica en este recuadro para enviar notificaciones relativas a la presente solicitud internacional, si dichas oficinas así lo desean ☒ como copias previas seguidas de las notificaciones en papel o, ☐ por correo electrónico exclusivamente (no se enviará ninguna notificación en papel) Dirección de correo-e: <u>NV-FOREIGN-DOCKETING@NIXONVAN.COM</u>		
Estado de nacionalidad (nombre del Estado): CA		Estado de domicilio (nombre del Estado): CA
Nombre y dirección: (apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país.) LISANTI, Michael P. 8115 Maple Lawn Blvd Suite 350, Oficina 324 Fulton, Maryland 20758 Estados Unidos de América		
Estado de nacionalidad (nombre del Estado): US		Estado de domicilio (nombre del Estado): US
☐ Los demás solicitantes se indican en una hoja de continuación		

Continuación del Recuadro N° II SOLICITANTE(S)

Si no se ha de utilizar ninguno de estos subrecuadros, esta hoja no debe ser incluida en la solicitud de examen preliminar internacional

Nombre y dirección: *(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país.)*

SOTGIA, Federica
8115 Maple Lawn Blvd
Suite 350, Oficina 324
Fulton, Maryland 20758
Estados Unidos de América

Estado de nacionalidad *(nombre del Estado):*
US

Estado de domicilio *(nombre del Estado):*
US

Nombre y dirección: *(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país.)*

Estado de nacionalidad *(nombre del Estado):*

Estado de domicilio *(nombre del Estado):*

Nombre y dirección: *(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país.)*

Estado de nacionalidad *(nombre del Estado):*

Estado de domicilio *(nombre del Estado):*

Nombre y dirección: *(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país.)*

Estado de nacionalidad *(nombre del Estado):*

Estado de domicilio *(nombre del Estado):*

☐

Los demás solicitantes se indican en otra hoja de continuación.

Recuadro N° III MANDATARIO O REPRESENTANTE COMÚN; O DIRECCIÓN PARA LA CORRESPONDENCIA	
La persona indicada a continuación es ☒ mandatario ☐ representante común	
y	☒ ha sido nombrada anteriormente; también representa al (los) solicitante(s) para el examen preliminar internacional. ☐ se nombra por la presente; todo nombramiento anterior de mandatario(s) o de representante común queda revocado. ☐ se nombra por la presente, especialmente para el procedimiento ante la Administración encargada del examen preliminar internacional, además del mandatario o mandatarios o del representante común nombrados anteriormente.
Nombre y dirección: <i>(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país.)</i> BRADY, Joshua B. NIXON & VANDERHYE P.C. 901 North Glebe Road, 11th Floor, Arlington Virginia 22203-1808 Estados Unidos de América	
N° de teléfono: 703-816-40000 N° de facsímil: 703-816-4100 N° de registro del mandatario en la Oficina: 68,190	
Autorización a utilizar el correo-e: al marcar una de las casillas que figuran abajo se autoriza a la Oficina Internacional y la Administración encargada del examen preliminar internacional a utilizar la dirección de correo-e que se indica en este recuadro para enviar notificaciones relativas a la presente solicitud internacional, si dichas oficinas así lo desean. ☐ como copias previas seguidas de las notificaciones en papel o, ☐ por correo electrónico exclusivamente (no se enviará ninguna notificación en papel) Dirección de correo-e: _____	
☐ Dirección para la correspondencia: márkese esta casilla cuando no se nombre/se haya nombrado ningún mandatario o representante común y el espacio de arriba se utilice en su lugar para indicar una dirección especial a la que deba enviarse la correspondencia.	
Recuadro N° IV BASE DEL EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL	
Declaración relativa a las modificaciones:*	
1. El solicitante desea que el examen preliminar internacional comience sobre la base de:	
la descripción	☒ tal como ha sido originalmente presentada, o ☐ tal como fue modificada en virtud del Artículo 34.
la lista de secuencias (si la hay)	☐ tal como ha sido originalmente presentada, o ☐ tal como fue modificada en virtud del Artículo 34: ☐ en formato de archivo de texto según Anexo C/ST.25 ☐ en formato papel o en formato de archivo de imagen
las reivindicaciones	☐ tal como han sido originalmente presentadas, o ☐ tal como fueron modificadas en virtud del Artículo 19, y/o ☒ tal como fueron modificadas en virtud del Artículo 34.
los dibujos (si los hay)	☒ tal como han sido originalmente presentados, o ☐ tal como fueron modificados en virtud del Artículo 34.
2. ☐ El solicitante desea que toda modificación efectuada a las reivindicaciones en virtud del Artículo 19 se considere invalidada.	
3. ☐ Cuando la Administración encargada del examen preliminar internacional desee iniciar el examen preliminar internacional al mismo tiempo que la búsqueda internacional según la Regla 69.1.b), el solicitante solicita a la Administración encargada del examen preliminar internacional que difiera el comienzo del examen preliminar internacional hasta el vencimiento del plazo aplicable según la Regla 69.1.d).	
4. ☐ El solicitante desea expresamente que el examen preliminar internacional comience antes de la expiración del plazo aplicable según la Regla 54bis.1.a).	
* Cuando no se haya marcado ninguna casilla, el examen preliminar internacional comenzará sobre la base de la solicitud internacional tal como haya sido presentada inicialmente, o, si la Administración encargada del examen preliminar internacional recibe una copia de las modificaciones efectuadas a las reivindicaciones en virtud del Artículo 19 y/o de las modificaciones efectuadas a la solicitud internacional en virtud del Artículo 34 antes de haber comenzado a redactar una opinión escrita o el informe de examen preliminar internacional, comenzará sobre la base de la solicitud internacional así modificada.	
Idioma a los efectos del examen preliminar internacional: _____ ☒ que es el idioma en el cual la solicitud internacional fue presentada. ☐ que es el idioma de una traducción aportada a efectos de la búsqueda internacional. ☐ que es el idioma de publicación de la solicitud internacional. ☐ que es el idioma de la traducción (que debe ser) aportada a efectos del examen preliminar internacional.	
Recuadro N° V ELECCIÓN DE ESTADOS	
La presentación de esta solicitud constituye la elección de todos los Estados contratantes que han sido designados y que son vinculados por el Capítulo II del PCT.	

Recuadro N° VI LISTA DE VERIFICACIÓN

A efectos del examen preliminar internacional, se adjuntan a la solicitud de examen preliminar internacional los documentos siguientes en el idioma indicado en el Recuadro N° IV:

- | | | |
|--|---|---------|
| 1. traducción de la solicitud internacional | : | hojas |
| 2. modificaciones según el Artículo 34 | : | 4 hojas |
| 3. carta que acompaña las modificaciones según el Artículo 34 (Regla 66.8) | : | 2 hojas |
| 4. copia (o, cuando se requiere, traducción) de las modificaciones según el Artículo 19 | : | hojas |
| 5. copia de la carta que acompaña las modificaciones según el Artículo 19 (Regla 46.5b) y 53.9 | : | hojas |
| 6. copia (o, cuando se requiere, traducción) de la declaración según el Artículo 19 (Regla 62.1.ii)) | : | hojas |
| 7. otros documentos (<i>precisar</i>) | : | 3 hojas |

Para uso de la Administración encargada del examen preliminar internacional únicamente

recibido no recibido

☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐

También se adjunta a la solicitud de examen preliminar internacional el documento o documentos marcados a continuación:

- | | |
|--|--|
| 1. ☒ hoja de cálculo de tasas | 5. ☐ lista de secuencias en formato de archivo de texto según Anexo C/ST.25 |
| 2. ☐ poder separado original | 6. ☐ otros (<i>especifíquese</i>): _____ |
| 3. ☐ poder general original | _____ |
| 4. ☐ copia del poder general; número de referencia, si hay: | _____ |

Recuadro N° VII FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL MANDATARIO O DEL REPRESENTANTE COMÚN

Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer la solicitud de examen preliminar internacional).

/Joshua B. Brady/

Joshua B. Brady
Reg. No. 68,190

Para uso de la Administración encargada del examen preliminar internacional únicamente

1. Fecha efectiva de recepción de la SOLICITUD DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL:

2. Fecha modificada de recepción de la solicitud de examen preliminar internacional, en caso de CORRECCIONES efectuadas en virtud de la Regla 60.1.b):

3. ☐ La solicitud de examen preliminar internacional se ha recibido DESPUÉS DE la expiración de 19 meses contados desde la fecha de prioridad y no son aplicables los puntos 4 y 5, que siguen.
- ☐ El solicitante ha sido informado en consecuencia.
4. ☒ La solicitud de examen preliminar internacional se ha recibido DENTRO del plazo de 19 meses contados desde la fecha de prioridad, prorrogado en virtud de la Regla 80.5.
5. ☐ Aun cuando la solicitud de examen preliminar internacional se haya recibido más de 19 meses después de la fecha de prioridad, el retraso queda EXCUSADO en virtud de la Regla 82.

6. ☐ La solicitud de examen preliminar internacional se ha recibido DESPUÉS DE la expiración del plazo según la Regla 54bis.1.a) y no son aplicables los puntos 7 y 8, que siguen.
7. ☐ La solicitud de examen preliminar internacional se ha recibido DENTRO del plazo según la Regla 54bis.1.a), prorrogado en virtud de la Regla 80.5.
8. ☐ Aun cuando la solicitud de examen preliminar internacional se haya recibido DESPUÉS DE la expiración del plazo según la Regla 54bis.1.a), el retraso queda EXCUSADO en virtud de la Regla 82.

Para uso de la Oficina Internacional únicamente

Solicitud de examen preliminar internacional recibida de la
Administración encargada del examen preliminar internacional el:

PCT

HOJA DE CÁLCULO DE TASAS

Anexo a la solicitud de examen preliminar internacional

<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">Solicitud internacional N°</td> <td>PCT/US2018/062174</td> </tr> <tr> <td>Referencia al expediente del solicitante o del mandatario</td> <td>JBB-6814-0043</td> </tr> </table>	Solicitud internacional N°	PCT/US2018/062174	Referencia al expediente del solicitante o del mandatario	JBB-6814-0043	Para uso de la Administración encargada del examen preliminar internacional únicamente Sello con la fecha de la Administración encargada del examen preliminar internacional
Solicitud internacional N°	PCT/US2018/062174				
Referencia al expediente del solicitante o del mandatario	JBB-6814-0043				
Solicitante LUNELLA BIOTECH, INC. et al					
CÁLCULO DE LAS TASAS PRESCRITAS <i>(Los solicitantes pueden tener derecho a una reducción en determinadas tasas tal y como se indica en las Tablas de tasas (http://www.wipo.int/pct/en/fees.pdf) (en inglés únicamente))</i>					
1. Tasa de examen preliminar	300.00 P				
2. Tasa de tramitación	203.00 H				
3. Total de las tasas prescritas Súmense las cantidades marcadas en los Recuadros P y H, y escríbase el resultado en la casilla TOTAL	USD \$503.00 TOTAL				
FORMA DE PAGO <i>(No todas las formas de pago son posibles en todas las Administraciones encargadas del examen preliminar internacional)</i>					
☒ tarjeta de crédito (los detalles no deben figurar en esta hoja) ☐ giro postal ☐ autorización para cargar en la cuenta corriente de la Administración encargada del examen preliminar internacional (véase abajo) ☐ cheque ☐ transferencia bancaria ☐ timbres fiscales ☐ en efectivo ☐ otros (especifíquese): _____ _____ _____					
AUTORIZACIÓN PARA CARGAR (O ABONAR) A UNA CUENTA CORRIENTE <i>(este modo de pago puede no estar disponible en todas las Administraciones encargadas del examen preliminar internacional)</i>					
☐ Autorización para cargar todas las tasas indicadas arriba.	Administración encargada del examen preliminar internacional/ <u>US</u>				
☒ (Esta casilla sólo se puede marcar, si las condiciones para cuentas corrientes de la Administración encargada del examen preliminar internacional lo permiten) Autorización para cargar todo importe que falte o para abonar todo excedente en el pago del total de las tasas indicadas arriba.	Cuenta corriente N°: <u>14-1140</u>				
	Fecha: <u>Septiembre 23, 2019</u>				
	Nombre: <u>Joshua B. Brady</u>				
	Firma: <u>/Joshua B. Brady/</u>				

ANTE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL

Solicitantes: LUNELLA BIOTECH, INC. et al.

Solicitud Internacional No. PCT/US2018/062174 N/Ref.: JBB-6814-0043

Fecha Presentación Internacional: Noviembre 21, 2018

Title: COMPUESTOS DE DERIVADOS DE TRIFENILFOSFONIO PARA ERRADICAR CÉLULAS MADRE CANCEROSAS

Septiembre 23, 2019

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Comisionado de Patentes
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sr:

**COMENTARIOS EN RESPUESTA AL REPORTE DE
BÚSQUEDA INTERNACIONAL Y LA OPINIÓN ESCRITA**

En respuesta al Informe de búsqueda internacional y a la Opinión escrita del 22 de marzo de 2019 ("ISR / WO"), y dentro de los límites de tiempo permitidos, los Solicitantes respetuosamente brindan los siguientes comentarios en relación con los reclamos de reemplazo enmendados en virtud del Artículo 34. Solicitud de los solicitantes que los reclamos de reemplazo se consideren en relación con esta Respuesta, y que la opinión escrita de la Autoridad Internacional de Examen Preliminar aborde los reclamos de reemplazo y la Respuesta de los Solicitantes.

Los solicitantes aprecian la indicación en el ISR/WO de que las reivindicaciones originales 2, 3, 6, 9-10, 17-18, 24 y 26 satisfacen los criterios del Artículo 33 (1) - (3) del PCT. Los reclamos enmendados de los solicitantes incorporan el tema patentable en los reclamos independientes. Por lo tanto, el razonamiento establecido en el ISR/WO con respecto a esas reivindicaciones debería seguir siendo aplicable a las reivindicaciones modificadas. Por al menos las razones discutidas en este documento, y la base de ISR/WO para encontrar ciertas reclamaciones patentables, los solicitantes afirman respetuosamente que todas las reclamaciones pendientes 1-27, según enmendada en virtud del artículo 34, satisfacen los criterios de los criterios del artículo 33 del PCT (1)) - (3).

Esta solicitud revela, entre otras cosas, un nuevo conjunto de compuestos derivados de TPP que se dirigen a las células madre cancerosas (CSC) e inhiben la propagación de CSC. Tal como se modificó, las reivindicaciones independientes 1, 5, 8, 16 y 22 de los solicitantes se modifican para enumerar compuestos derivados de TPP particulares en los métodos y composiciones anticancerígenos reivindicados: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-

clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP. Las reivindicaciones originales 3, 6, 9, 17 y 24 recitan estos compuestos derivados de TPP, y el ISR / WO concluyó que estas reivindicaciones (y otras) son patentables sobre la técnica anterior de registro. Esas conclusiones deberían aplicarse a las reivindicaciones enmendadas, al menos porque el arte del registro no revela o sugiere los compuestos derivados de TPP citados como agentes terapéuticos contra el cáncer.

El ISR / WO describió las deficiencias en la técnica anterior en la página 5-6. Por ejemplo, el ISR / WO consideró la publicación de patente estadounidense 2010/0105794 A1 de Dietliker et al. ("Dietliker"), que se refiere a la preparación fotoquímica de derivados de amidina. Dietliker enumera numerosos reactivos de Wittig en el párrafo [0121], incluido 2-buten-1,4-bis-TPP.¹ La referencia no menciona el uso de ninguno de los compuestos descritos, incluidos los reactivos de Wittig, como agentes terapéuticos contra el cáncer. De hecho, como señaló el ISR / WO en la página 6, el enfoque de Dietliker en las sales de nitrógeno fotoactivables es un campo completamente diferente al de la divulgación de los Solicitantes, y las otras referencias discutidas. Como resultado, el ISR / WO encontró varias reclamaciones originales patentables sobre el arte del registro.

Esas conclusiones deberían aplicarse a las reivindicaciones modificadas, al menos porque las reivindicaciones independientes ahora recitan los compuestos derivados de TPP de los solicitantes. La publicación de Silva, por ejemplo, se centra en los derivados del ácido gálico, TPP + C8, TPP + C10 y TPP + C12. Ver, por ejemplo, Silva en Abstract. Como tal, Silva no sugiere que otros compuestos de TPP puedan tener eficacia como agentes terapéuticos contra el cáncer. Publicación de solicitud de patente internacional WO 2016/155679 A1 a Neuzil et al. ("KKCG") describe los análogos de biguanida TPP, en los que el resto TPP básico no cambia. Ver, por ejemplo, KKCG fórmula general II. Del mismo modo, la publicación de patente europea 3.124.027 de Balczewski et al. ("Badan") describe las sales de TPP, en las que el resto TPP no cambia. Véase, por ejemplo, la fórmula 1. de Badan. Publicación de solicitud de patente internacional WO 2014/124384 A1 de Schultz et al. ("Iowa") describe composiciones que incluyen un resto TPP, y no describe ni sugiere los derivados de TPP reivindicados. Publicación de solicitud de patente internacional WO 2014/0228290 A1 a Spitz et al. ("Spitz") describe las composiciones de X-TPP, pero como se encuentra en la página 6 del ISR / WO, Spitz no revela ni sugiere los derivados de TPP reivindicados.

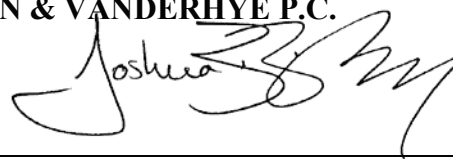
¹ La reacción de Wittig implica un aldehído o cetona y un iluro de trifenilfosfonio, para generar un óxido de alqueno y trifenilfosfina.

Por lo tanto, las reivindicaciones modificadas de los solicitantes incorporan el tema que el ISR / WO concluyó que era patentemente distinto de las referencias de registro, y la técnica anterior no enseña ni sugiere las reivindicaciones 1-27. Las reclamaciones de reemplazo son, al menos por las razones discutidas anteriormente, patentables sobre la técnica anterior de registro. Los solicitantes solicitan respetuosamente que la Autoridad Internacional de Examen Preliminar confirme que las reclamaciones pendientes satisfacen los criterios del Artículo 33 (1) - (3) del PCT. En caso de que una llamada telefónica facilite un mayor enjuiciamiento, se invita a la Oficina a llamar al que suscribe al número que figura a continuación.

Respetuosamente,

NIXON & VANDERHYE P.C.

Por:



Joshua B. Brady
Reg. No. 68,190

Anexos:
Hojas de reemplazo
Demanda

Nixon & Vanderhye, P.C.
901 North Glebe Road, 11th Piso
Arlington, VA 22203-1808
Telefono: (703) 816-4000
Faxsimil: (703) 816-4100

ANTE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL

Solicitantes: LUNELLA BIOTECH, INC. et al.

Solicitud Internacional No. PCT/US2018/062174 N/Ref.: JBB-6814-0043

Fecha de Presentación Internacional : Noviembre 21, 2018

Title: COMPUESTOS DE DERIVADOS DE TRIFENILFOSFONIO PARA ERRADICAR CÉLULAS MADRE CANCEROSAS

Septiembre 23, 2019

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Comisionado para Patentes
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sr: **ENMIENDAS DE CONFORMIDAD CON EL ARTÍCULO 34 DEL PCT**

CARTA EXPLICATIVA

En respuesta al Informe de búsqueda internacional y la Opinión escrita del 22 de marzo de 2019 (“ISR / WO”), y dentro de los límites de tiempo permitidos, los Solicitantes respetuosamente brindan las Reclamaciones de reemplazo adjuntas, según enmendado en virtud del Artículo 34. Se adjuntan cuatro (4) nuevas hojas de reclamos de reemplazo para reemplazar los reclamos en las páginas 25-27 de la solicitud presentada originalmente. Los solicitantes proporcionan la siguiente descripción de las modificaciones realizadas en virtud del Artículo 34. No se ha agregado ningún asunto nuevo.

La reivindicación 1 se modifica. La reivindicación 2 no ha cambiado. Reivindicación 3-7 se modifican. Las reivindicaciones 8 y 9 se modifican. Las reivindicaciones 10-13 no cambian. La reivindicación 14 se modifica. La reivindicación 15 no ha cambiado. Se modifican las reivindicaciones 16 y 17. Las reivindicaciones 18, 20 y 21 no se modifican. La reivindicación 19 se modifica. Se modifica la reivindicación 22. La reivindicación 23 no ha cambiado. La reivindicación 24 se modifica. La reivindicación 25 no ha cambiado. La reivindicación 26 se modifica. La reivindicación 27 es nueva. La base para las nuevas reivindicaciones se puede encontrar en las reivindicaciones originales y en toda la especificación original. Una base demostrativa para las nuevas reivindicaciones es la siguiente.

- Las reivindicaciones 1, 5, 8, 16 y 22 se modifican para enumerar los compuestos derivados de TPP. La base se puede encontrar en los párrafos [0042] y [0045] de la Especificación, y las reivindicaciones originales.
- Las reivindicaciones 3, 6, 9 y 17 se modifican para recitar al menos un agente terapéutico que tiene un efecto antimitocondrial. La base se puede encontrar en los párrafos [0015], [0053] y [0058] de la Especificación, y las reivindicaciones originales.

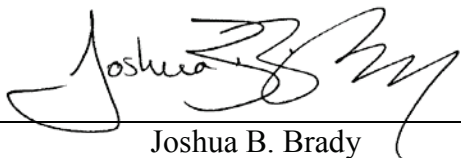
- La reivindicación 4 se modifica para depender de la reivindicación 3. Se puede encontrar soporte en al menos las reivindicaciones originales.
- La reivindicación 7 se modifica para depender de la reivindicación 6. Se puede encontrar soporte en al menos las reivindicaciones originales.
- Las reivindicaciones 9 y 10 se modifican para mantener la coherencia con sus respectivas reivindicaciones básicas. La base para las enmiendas a las reivindicaciones 9 y 10 se puede encontrar en las reivindicaciones originales 8 y 9, y en el párrafo [0041] de la Especificación.
- La reivindicación 14 se modifica para depender de la reivindicación 9. Se puede encontrar soporte en al menos las reivindicaciones originales.
- La reivindicación 19 se modifica por coherencia con la reivindicación 17.
- La reivindicación 24 se modifica para enumerar los agentes terapéuticos. La base se puede encontrar en el párrafo [0053] de la Especificación y en las reivindicaciones originales 4, 7 y 14.
- La reivindicación 26 es el resultado de reenumerar una reivindicación duplicada 25.
- La nueva reivindicación 27 recita agentes terapéuticos. La base se puede encontrar en el párrafo [0053] de la Especificación y en las reivindicaciones originales 4, 7 y 14.

La Especificación original brinda soporte para las Reclamaciones de Reemplazo, y no se ha agregado ningún asunto nuevo. En caso de que una llamada telefónica facilite un mayor enjuiciamiento, se invita a la Oficina a llamar al que suscribe al número que figura a continuación.

Respetuosamente,

NIXON & VANDERHYE P.C.

Por:


Joshua B. Brady
Reg. No. 68,190

Anexos

Hojas de Reemplazo

Demanda

Respuesta a ISR/WO

Nixon & Vanderhye, P.C.

901 North Glebe Road, 11th Piso

Arlington, VA 22203-1808

Teléfono: (703) 816-4000

Faxsimil: (703) 816-4100

REIVINDICACIONES DE REEMPLAZO

Lo que se reivindica es:

1. Un método para tratar por lo menos uno de recurrencia de tumores y metástasis, resistencia a fármacos
5 y resistencia a la radioterapia, el método está caracterizado porque comprende administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno de: 2-buteno-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buteno-1,4-bis-TPP; 2-
10 clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.
- 15 2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de derivado de TPP comprende 2-buteno-1,4-bis-TPP.
3. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además por
20 lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.
4. El método de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque por lo menos el agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial
25 comprende por lo menos uno de un antibiótico, producto

quimioterapéutico, producto nutracéutico, inhibidor de la biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxa, inhibidor del metabolismo oxidante e
5 inhibidor del metabolismo glicolítico.

5. Un método para prevenir por lo menos uno de recurrencia de tumores y metástasis, resistencia a fármacos y resistencia a la radioterapia, el método está caracterizado porque comprende administrar una cantidad
10 farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-
15 diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

6. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque comprende además por
20 lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

7. El método de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque por lo menos el agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial
25 comprende por lo menos uno de un antibiótico, producto

quimioterapéutico, producto nutracéutico, inhibidor de la biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxa, inhibidor del metabolismo oxidante e
5 inhibidor del metabolismo glicolítico.

8. Un método para tratar el cáncer, el método está caracterizado porque comprende administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno
10 de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-
15 xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

9. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque comprende además por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

20 10. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP comprende 2-buten-1,4-bis-TPP.

11. El método de conformidad con la
25 reivindicación 8, caracterizado porque por lo menos el

compuesto de derivado de TPP fija como objetivo selectivamente por lo menos una de células cancerosas a granel, CSCs y células madre cancerosas energéticas.

12. El método de conformidad con la
5 reivindicación 11, caracterizado porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP fija como objetivo selectivamente células senescentes normales.

13. El método de conformidad con la
reivindicación 8, caracterizado porque por lo menos el
10 compuesto de derivado de TPP no es tóxico para células saludables normales.

14. El método de conformidad con la
reivindicación 9, caracterizado porque por lo menos el agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial
15 comprende por lo menos uno de un antibiótico, inhibidor de la biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxina, inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

20 15. El método de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado porque el inhibidor del metabolismo glicolítico comprende por lo menos uno de un inhibidor de la glicólisis, un inhibidor de la OXPHOS y un inhibidor de la autofagia.

25 16. Una composición farmacéutica anticancerosa,

caracterizada porque comprende por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-
5 metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

17. La composición de conformidad con la
10 reivindicación 16, caracterizada porque comprende además por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

18. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque por lo menos el
15 compuesto de derivado de TPP es 2-buten-1,4-bis-TPP.

19. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque por lo menos el compuesto de derivado de TPP erradica por lo menos una de células cancerosas a granel, células madre cancerosas,
20 células madre cancerosas energéticas y células senescentes normales.

20. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque el compuesto de derivado de TPP no es tóxico hacia células saludables
25 normales.

21. La composición de conformidad con la reivindicación 16, caracterizada porque la composición posee por lo menos una de actividad radiosensibilizante, actividad fotosensibilizante y actividad para sensibilizar
5 células cancerosas a por lo menos uno de los agentes quimioterapéuticos, sustancias naturales y restricción de calor.

22. Un método para dirigir un agente terapéutico a las mitocondrias de células madre cancerosas, el método
10 está caracterizado porque comprende modificar químicamente el agente terapéutico con por lo menos un compuesto de derivado de TPP que comprende por lo menos uno de: 2-buten-1,4-bis-TPP; un derivado de 2-buten-1,4-bis-TPP; 2-clorobencil-TPP; un derivado de 2-clorobencil-TPP; 3-
15 metilbencil-TPP; un derivado de 3-metilbencil-TPP; 2,4-diclorobencil-TPP; un derivado de 2,4-diclorobencil-TPP; 1-naftilmetil-TPP; un derivado de 1-naftilmetil-TPP; p-xililenbis-TPP; y un derivado de p-xililenbis-TPP.

23. El método de conformidad con la
20 reivindicación 22, caracterizado porque el agente terapéutico tiene un efecto anti-mitocondrial.

24. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el agente terapéutico comprende por lo menos uno de un antibiótico,
25 inhibidor de la biogénesis mitocondrial, mitorriboscina,

mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxina, inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.

5 25. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el agente terapéutico modificado químicamente comprende por lo menos una de actividad antiviral mejorada, actividad antibacteriana mejorada y actividad antimicrobiana
10 mejorada.

26. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende 2-buten-1,4-bis-TPP y por lo menos un agente terapéutico que tiene un efecto anti-mitocondrial.

27. La composición farmacéutica de conformidad
15 con la reivindicación 26, caracterizada porque por lo menos el agente terapéutico comprende por lo menos uno de un antibiótico, inhibidor de la biogénesis mitocondrial, mitorriboscina, mitoquetoscina, mitorribociclina, mitorribomicina, mitorribosporina, mitorribofloxina,
20 inhibidor del metabolismo oxidante e inhibidor del metabolismo glicolítico.