

## CONJUGADOS DE UNIÓN A FOSFATIDILSERINA Y RECEPTORES TIPO TOLL

### SOLICITUD RELACIONADA

5      [1]      Esta solicitud reclama prioridad de la Solicitud Provisional de E.U. con Núm. de Serie 63/295,462, presentada en diciembre 30 de 2021, cuya divulgación se incorpora en este documento por su referencia en su totalidad.

### CAMPO DE LA INVENCION

10      [2]      Las modalidades de la invención se relacionan con conjugados de unión a fosfatidilserina (de unión a PS), capaces de activar o estimular receptores tipo Toll (TLR), y con métodos de uso de estos conjugados para tratar el cáncer.

### SUMARIO DE LA INVENCION

15      [3]      Un aspecto de la presente divulgación se refiere a un conjugado de unión a fosfatidilserina (de unión a PS), en donde el conjugado comprende por lo menos un dominio de unión a PS, y en donde el conjugado incluye por lo menos un dominio de unión a receptores tipo Toll (de unión a TLR).

20      [4]      Otro aspecto de la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de un sujeto con cáncer, que comprende administrar al sujeto un conjugado como se da a conocer en este documento.

### BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

25      [5]      La **Figura 1** es una gráfica que muestra curvas de crecimiento ejemplares del tumor subcutáneo singénico, la línea celular de cáncer de colon CT26, de ratones BALB/c tratados con cisplatino, CBP501, anticuerpo anti-CTLA-4, TSA005 y/o vehículo, durante uno o

más ciclos.

[6] La **Figura 2** es una gráfica que muestra curvas de crecimiento ejemplares del tumor subcutáneo singénico, la línea celular de cáncer de colon CT26, de ratones BALB/c tratados con cisplatino, CBP501, anticuerpo anti-CTLA-4, con TSA005, TSA009 o vehículo, durante un ciclo.

[7] La **Figura 3** presenta gráficos de citometría de flujo que muestran un análisis ejemplar de una versión de cianina-5.5 (Cy5.5) de TSA005 y TSA006, teñida con FITC-anexina V. Los datos de la presente figura muestran la doble tinción de anexina V y TSA005 o TSA006.

[8] Las **Figuras 4A a 4D** presentan los efectos ejemplares de TSA005 o TSA006 sobre la línea celular de cáncer de colon de ratón CT-26 implantada por vía subcutánea en ratones BALB/c singénicos. La **Figura 4A** muestra curvas de crecimiento ejemplares de la línea celular de cáncer de colon de ratón CT-26 implantada por vía subcutánea en ratones BALB/c singénicos. Esta figura muestra la supresión adicional del crecimiento tumoral al tratamiento con cisplatino + CBP501 + anti-CTLA4, por la adición de TSA005 o TSA006. En esta figura, "ip" significa "inyección intraperitoneal", e "iv" significa "inyección intravenosa". Las **Figuras 4B a 4D** muestran curvas de crecimiento tumoral individuales de los experimentos mostrados en la Figura 4A (**Figura 4B**: tratamiento con CDDP + 501 + aCTLA4 + solución salina, **Figura 4C**: tratamiento con CDDP + 501 + aCTLA4 + TSA005, **Figura 4D**: tratamiento con CDDP + 501 + aCTLA4 + TSA006).

[9] La **Figura 5** muestra la distribución de la versión Cy5.5 de TSA006 (TSA013) después del tratamiento de ratones BALB/c singénicos a los que se implantó por vía subcutánea la línea celular de cáncer de colon de ratón CT26 con cisplatino, CBP501 y TSA013.

### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

**[10]** El éxito de los inhibidores de puntos de control inmunitarios, particularmente los anticuerpos anti-CTLA4, anti-PD1 y anti-PDL1, ha establecido la terapia inmunitaria como un quinto pilar para luchar contra el cáncer, además de la cirugía, la radioterapia, la quimioterapia y la terapia molecular dirigida (ref. 1). Se están investigando anticuerpos y células T genéticamente modificadas que potencian la función de las células T. Algunas de estas terapias ya han sido aprobadas, o lo serán en breve, por la FDA estadounidense como medicamentos anticancerosos (ref. 2).

**[11]** La acción de estos agentes inmunológicos, que potencian las células T, tiende a ser robusta y se ha demostrado que mejora significativamente la supervivencia y el pronóstico de los pacientes. Sin embargo, parece que estos tratamientos sólo funcionan en una minoría de pacientes. Por lo tanto, aún existen grandes necesidades médicas insatisfechas (ref. 1).

**[12]** Las células T pertenecen a uno de los dos sistemas inmunitarios principales en mamíferos y humanos, es decir, el sistema inmunitario adaptativo. El sistema inmunitario adaptativo, también referido como sistema inmunitario adquirido, es un subsistema del sistema inmunitario que se compone de células y procesos sistémicos especializados, que eliminan patógenos o impiden su crecimiento. El sistema inmunitario adquirido es una de las dos estrategias inmunitarias principales de los vertebrados (la otra es el sistema inmunitario innato). Al igual que el sistema innato, el sistema inmunitario adaptativo incluye tanto componentes de inmunidad humoral como componentes de inmunidad mediada por células, y destruye patógenos invasores. A diferencia del sistema inmunitario innato, el cual está preprogramado para reaccionar ante amplias categorías comunes de patógenos, el sistema inmunitario adaptativo es altamente específico para cada patógeno particular con el que se encuentra el organismo.

**[13]** El sistema inmunitario innato es una estrategia de defensa evolutiva más antigua, en términos relativos. Las funciones principales del sistema inmunitario innato son reclutar células

inmunitarias hacia los focos de infección por la producción de factores químicos, incluyendo mediadores químicos tales como citocinas, activar la cascada del complemento para identificar bacterias, activar células y promover la depuración de complejos de anticuerpos o células muertas, identificar y retirar sustancias extrañas presentes en órganos, tejidos, sangre y linfa por glóbulos blancos especializados, y activar el sistema inmunitario adaptativo a través de la presentación de antígenos.

**[14]** El sistema inmunitario innato tiende a activarse antes que el sistema inmunitario adaptativo, y a iniciar y/o intensificar su actividad. De entre los componentes del sistema inmunitario innato, los receptores tipo Toll (TLR) se han considerado candidatos interesantes para inducir la activación del sistema inmunitario contra el cáncer. Hasta la fecha se han investigado muchos compuestos en el campo de la investigación básica, y muchos de ellos han sido objeto de ensayos clínicos en humanos (ref. 3). Muchos agonistas de TLR han mostrado prometedoras actividades anticancerosas en modelos animales, sin embargo, muchos de ellos aún no han mostrado eficacia en estudios clínicos. Algunas de las razones del fracaso de los agonistas de TLR en los estudios clínicos son las toxicidades sistémicas y/o la falta de actividad a las dosis tolerables (ref. 4).

**[15]** Los métodos de orientación hacia tumores con anticuerpos han tenido éxito en muchos tipos de cáncer. Sin embargo, estos métodos han demostrado ser menos efectivos en el tratamiento de tumores sólidos, dado que se considera que las moléculas de gran tamaño, tales como estos, tienden a no penetrar en los tejidos intersticiales densos (ref. 7).

**[16]** Para superar este problema, la presente invención provee compuestos que comprenden péptidos de unión a fosfatidilserina (PS), que se orientan a células apoptóticas, para suministrar agonistas de TLR al sitio tumoral. Una vez unidos, estos conjugados desencadenan la fagocitosis de la célula apoptótica por las células presentadoras de antígenos (APC). Esto permite que el agente anticanceroso actúe contra una diversidad de tumores solo, o en

combinación con otros agentes antitumorales que se espera que induzcan la apoptosis de las células tumorales, y/o actúen a través del sistema inmunitario adaptativo.

**[17]** La fosfatidilserina (PS) está predominantemente confinada a la lámina interna de la membrana plasmática de las células, pero se externaliza en la superficie celular durante la apoptosis. La PS externalizada se requiere para la fagocitosis efectiva de las células apoptóticas por los macrófagos. Se considera que esta fagocitosis silencia el sistema inmunitario frente a los antígenos contenidos en las células sometidas a fagocitosis. También se considera que este es uno de los mecanismos que las células cancerosas pueden utilizar para evadir la vigilancia inmunológica. Al ser sujeto de fagocitosis por los macrófagos, un gran número de células cancerosas moribundas no desencadenaría ninguna respuesta específica de antígenos por parte del sistema inmunitario (ref. 8).

**[18]** Aquí, para la presente invención, activa una reacción inmune hacia los antígenos presentes en las células apoptóticas y/o moribundas, en donde los antígenos presumiblemente incluyen neoantígenos que se encuentran en las células cancerosas, al conjugar agonistas de TLR con péptidos de unión a PS.

**[19]** Un aspecto de la presente divulgación se refiere a un conjugado de unión a fosfatidilserina (de unión a PS), en donde el conjugado comprende por lo menos un dominio de unión a PS, y en donde el conjugado incluye por lo menos un dominio de unión a receptores tipo Toll (de unión a TLR).

**[20]** Tal como se utiliza en este documento, el término "conjugado", cuando se refiere a dos fracciones, significa que las dos fracciones están enlazadas, en donde el enlace o enlaces que conectan las dos fracciones pueden ser covalentes o no covalentes. En algunas modalidades, las dos fracciones están enlazadas de manera covalente entre sí (por ejemplo, directamente o a través de un intermediario enlazado covalentemente). En las modalidades, las dos fracciones se enlazan de manera no covalente (por ejemplo, a través de un enlace o enlaces

iónicos, un enlace o enlaces/interacciones de van der waal, un enlace o enlaces de hidrógeno, un enlace o enlaces polares, o combinaciones o mezclas de los mismos).

**[21]** En algunas modalidades, el dominio de unión a PS es una secuencia peptídica, cuyos ejemplos no limitantes son LIKKPF (SEQ ID NO :1), PGDLSR (SEQ ID NO :2), CLIKKPF (SEQ ID NO :3), CPGDLSR (SEQ ID NO :4), FNFRLKAGAKIRFG (SEQ ID NO :5), FXFXLKXXXKXR (SEQ ID NO :6), TLVSSL (SEQ ID NO :7), CLSYYPSTYC (SEQ ID NO :8), GEGKGGr (SEQ ID NO :9), gegkggr (SEQ ID NO :10), GEGr (SEQ ID NO :11), gegr (SEQ ID NO :12), GE, ge, RGEGR (SEQ ID NO :13), rgegr (SEQ ID NO :14) y Cyclo(RKKKWFGC) (SEQ ID NO :15); en donde una letra mayúscula indica un L-aminoácido, y una letra no mayúscula indica un D-aminoácido, y en donde "X" representa cualquier L-aminoácido. En algunas modalidades, la secuencia peptídica de unión a PS es GEGKGGr (SEQ ID NO: 9).

**[22]** En algunas modalidades, la estructura de TSA006 es (GEGKGGr)<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>-K-Cys(MI-CL264)-NH<sub>2</sub>. En algunas modalidades, la estructura de TSA029 es (RGEGR)<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>-K-Cys(MI-CL264)-NH<sub>2</sub>.

**[23]** En algunas modalidades, la secuencia peptídica de unión a PS es 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a TLVSSL (SEQ ID NO: 7).

**[24]** En algunas modalidades, la secuencia peptídica de unión a PS es 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a GEGKGGr (SEQ ID NO: 9), en donde una letra mayúscula indica un L-aminoácido, y una letra no mayúscula indica un D-aminoácido.

**[25]** Tal como se utilizan en este documento, los términos "capaz de unirse" o "unión" se refieren a una fracción (por ejemplo, un compuesto como se describe en este documento) que es capaz de unirse de manera medible a un objetivo (por ejemplo, una fosfatidilserina o una proteína de receptor tipo Toll). En las modalidades, en casos donde una fracción es capaz de

unirse a un objetivo, la fracción es capaz de unirse con una  $K_d$  de menos de aproximadamente 10  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 1  $\mu$ M, 500 nM, 250 nM, 100 nM, 75 nM, 50 nM, 25 nM, 15 nM, 10 nM, 5 nM, 1 nM o de aproximadamente 0.1 nM.

**[26]** En algunas modalidades, el dominio de unión a TLR es un agonista de TLR, cuyos ejemplos no limitantes son Pam3Cys, PAM3CSK4, PAM3CSK4, SMP-105, CBLB612, IPH 3102, ARNAX, MPLA, MALP-2, zimosano, Poly (I:C), Poly-ICLC, Poly-IC12U, GLA-SE, BNT411, AS04, AS15, OK-432, CBLB502, M-VM3, bistriazolilo, VTX1463, MGN1703, CpG-7909, IMO2055, dSLIM, SD-101, KSK-CpG, ODN M362, CpG-1826, LPS, flagelina, imiquimod, motolimod, rintatolimod, CL264, imidazoquinolina, resiquimod, tilisotolimod, UC-1V150, CADI-05, GNKG168, RO7119929, SHR2150, TransCon, CMP-001 y CpG ODN.

**[27]** Tal como se utilizan en este documento, los términos "receptores tipo Toll" y "TLR" se refieren a una clase de proteínas que desempeñan un papel clave en el sistema inmunitario innato. Los TLR son receptores de extensión membranal de un solo paso usualmente expresados en células centinela, tales como macrófagos y células dendríticas, y que reconocen moléculas estructuralmente conservadas derivadas de microbios. Una vez que estos microbios han traspasado barreras físicas tales como la piel o la mucosa del tracto intestinal, son reconocidos por los TLR, los cuales activan las respuestas de las células inmunitarias. Los TLR incluyen a TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 y TLR13. Los humanos carecen de genes para TLR11, TLR12 y TLR13[1], y los ratones carecen de un gen funcional para TLR10. TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 y TLR10 se ubican en la membrana celular, mientras que TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9 se localizan en vesículas intracelulares, dado que son sensores de ácidos nucleicos.

**[28]** Los términos "agonista", "activador", "sobrerregulador", etc. se refieren a una sustancia capaz de incrementar de forma detectable la expresión o actividad de un gen o proteína determinados. El agonista puede incrementar la expresión o actividad en 10%, 20%, 30%, 40%,

50%, 60%, 70%, 80%, 90% o más, en comparación con un control en ausencia del agonista. En ciertos casos, la expresión o actividad es 1.5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 10 veces o más la expresión o actividad en ausencia del agonista.

**[29]** En algunas modalidades, el conjugado comprende más de una secuencia peptídica de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende más de dos secuencias peptídicas de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un dímero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un trímero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un tetramero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un pentámero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un hexámero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un heptámero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un octámero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un nonámero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un decámero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un undecámero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un dodecámero de la misma secuencia de unión a PS. En algunas modalidades, el conjugado comprende un tetramero de TLVSSL (SEQ ID NO: 7), en donde una letra mayúscula indica un L-aminoácido, y una letra no mayúscula indica un D-aminoácido. En algunas modalidades, el conjugado comprende un tetramero de GEGKGGr (SEQ ID NO: 9), en donde una letra mayúscula indica un L-aminoácido, y una letra no mayúscula indica un D-aminoácido.

**[30]** En cierta modalidad, el conjugado comprende uno o más retroinversos de cualquiera de los péptidos de unión a PS dados a conocer en este documento.

**[31]** El término "retroinverso" se refiere a péptidos lineales cuya secuencia de

aminoácidos se revierte y la quiralidad de centros  $\alpha$ , de las subunidades de aminoácidos, también se invierte. Usualmente, estos tipos de péptidos se diseñan al incluir D-aminoácidos en la secuencia inversa, para ayudar a mantener la topología de cadenas laterales similar a la del péptido de L-aminoácidos original, y hacerlos más resistentes a la degradación proteolítica. Otros sinónimos informados para estos péptidos en la literatura científica son: péptidos retroinversos, péptidos todo D retro, péptidos retroenantio, análogos retroinversos, derivados retroinversos e isómeros retroinversos. Los D-aminoácidos representan imágenes especulares conformacionales de L-aminoácidos naturales, que se encuentran en las proteínas naturales presentes en los sistemas biológicos. Los péptidos que contienen D-aminoácidos tienen ventajas sobre los péptidos que sólo contienen L-aminoácidos. En general, estos tipos de péptidos son menos susceptibles a la degradación proteolítica, y tienen un tiempo de efectividad más prolongado cuando se utilizan como productos farmacéuticos. Además, la inserción de D-aminoácidos en regiones de secuencias seleccionadas, como bloques de secuencias que contienen sólo D-aminoácidos o entre L-aminoácidos, permite el diseño de fármacos basados en péptidos que son bioactivos y poseen una mayor biodisponibilidad, además de ser resistentes a la proteólisis. Además, si se diseñan apropiadamente, los péptidos retroinversos pueden tener características de unión similares a las de los L-péptidos. Los péptidos retroinversos son candidatos útiles para el estudio de las interacciones proteína-proteína, al diseñar de peptidomiméticos que imitan la conformación de epítopos peptídicos, las interfases proteína-proteína, o aquellas proteína-péptido. Los péptidos retroinversos son atractivas alternativas a los L-péptidos utilizados como productos farmacéuticos. Se ha informado de que estos péptidos suscitan respuestas inmunogénicas menores, en comparación con los péptidos L. En la presente divulgación, los L-aminoácidos se representan con letras mayúsculas, y los D-aminoácidos se representan con letras no mayúsculas.

**[32]** En algunas modalidades, el agonista de TLR se selecciona de entre el grupo que

consiste en: En algunas modalidades, el agonista de TLR es CL264. En algunas modalidades, el dominio de unión a TLR es el agonista de TLR CL264.

**[33]** En algunas modalidades, el conjugado comprende una fracción enlazadora que enlaza el dominio de unión a PS al dominio de unión a TLR. En algunas modalidades, la fracción enlazadora es una secuencia de aminoácidos corta (o "enlazador de aminoácidos") creada en la naturaleza para separar múltiples dominios en una sola proteína. La mayor parte de los enlazadores de aminoácidos son rígidos y funcionan para prohibir interacciones indeseables entre los dominios discretos, pero otros enlazadores, tales como los enlazadores "ricos en Gly", son flexibles y conectan varios dominios en una sola proteína, sin interferir con la función de cada dominio. Numerosos enlazadores de aminoácidos se conocen en la materia, por ejemplo, en la publicación de Reddy Chichili VP *et al.* ("Linkers in the structural biology of protein-protein interactions." *Protein Sci.* 2013;22(2):153-167. doi:10.1002/pro.2206). Son posibles modificaciones en los enlazadores de aminoácidos conocidos, tal como el uso de aminoácidos no naturales o aminoácidos no proteinogénicos. Por ejemplo, una fracción enlazadora puede comprender ornitina, ácido 2,4-diaminobutírico y/o ácido 2,3-diaminopropanoico. En algunas modalidades, la fracción enlazadora no comprende aminoácido alguno.

**[34]** Otro aspecto de la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de un sujeto con cáncer, que comprende administrar al sujeto un conjugado como se da a conocer en este documento.

**[35]** En algunas modalidades, el cáncer es un tumor sólido. Los ejemplos no limitantes de los tumores sólidos incluyen sarcomas, carcinomas y linfomas. Los tumores sólidos también pueden identificarse con base en el órgano del que se originan, tal como el cerebro, pulmón, esófago, estómago, páncreas o hígado de un sujeto. En algunas modalidades, un tumor sólido es un mesotelioma. En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer de base sanguínea. En algunas modalidades, el cáncer es mieloma múltiple. En algunas modalidades, el cáncer es

cáncer de colon. En algunas modalidades, el cáncer es leucemia.

**[36]** Tal como se utiliza en este documento, el término "cáncer" se refiere a todos los tipos de cáncer, neoplasias o tumores malignos que se encuentran en mamíferos (por ejemplo, en humanos), incluyendo leucemias, linfomas, carcinomas y sarcomas. Los cánceres ejemplares, que pueden tratarse con un compuesto o método provisto en este documento, incluyen cáncer cerebral, glioma, glioblastoma, neuroblastoma, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer de vesícula biliar, cáncer colorrectal, cáncer pancreático, meduloblastoma, cáncer de piel, melanoma, cáncer de cérvix, cáncer gástrico, cáncer esofágico, cáncer de hígado, cáncer endometrial, cáncer ovárico, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, enfermedad de Hodgkin y linfomas no Hodgkin. Los cánceres ejemplares que pueden tratarse con un compuesto o método provisto en este documento incluyen cáncer de la tiroides, sistema endocrino, cerebro, mama, cérvix, colon, cabeza y cuello, hígado, riñón, pulmón, ovario, páncreas, recto, esófago, estómago y útero. Ejemplos adicionales incluyen carcinoma de tiroides, colangiocarcinoma, adenocarcinoma pancreático, melanoma cutáneo de piel, adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma de recto, adenocarcinoma de estómago, carcinoma esofágico, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma invasivo de mama, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de células escamosas de pulmón, carcinoma pulmonar no microcítico, mesotelioma, mieloma múltiple, neuroblastoma, glioma, glioblastoma multiforme, cáncer ovárico, rabdomiosarcoma, sarcoma de tejidos blandos, osteosarcoma, trombocitosis primaria, macroglobulinemia primaria, tumores cerebrales primarios, insulinoma pancreático maligno, tumor neuroendocrino, carcinoide maligno, cáncer de vejiga urinaria, lesiones cutáneas premalignas, cáncer testicular, cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer esofágico, cáncer del tracto genitourinario, hipercalcemia maligna, cáncer endometrial, cáncer cortical suprarrenal, neoplasias del páncreas endocrino o exocrino, cáncer de tiroides medular, carcinoma de tiroides medular, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de tiroides papilar, carcinoma hepatocelular o

cáncer de próstata.

**[37]** El término "leucemia" se refiere en términos generales a las enfermedades malignas progresivas de los órganos hematopoyéticos, y se caracteriza generalmente por una proliferación y desarrollo distorsionados de los leucocitos y sus precursores en la sangre y médula ósea. La leucemia se clasifica clínicamente en general en función de (1) la duración y el carácter de la enfermedad: aguda o crónica; (2) el tipo de célula implicada: mieloide (mielógena), linfoide (linfógena) o monocítica; y (3) el aumento o no aumento del número de células anormales en la sangre: leucémica o aleucémica (subleucémica). Las leucemias ejemplares que pueden tratarse con un compuesto o método provisto en este documento incluyen, por ejemplo, leucemia no linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, leucemia granulocítica crónica, leucemia promielocítica aguda, leucemia de células T del adulto, leucemia aleucémica, leucemia leucocitémica, leucemia basofílica, leucemia blástica, leucemia bovina, leucemia mielocítica crónica, leucemia cutis, leucemia embrionaria, leucemia eosinofílica, leucemia de Gross, tricoleucemia, leucemia hemoblástica, leucemia hemocitoblástica, leucemia histiocítica, leucemia de células troncales, leucemia monocítica aguda, leucemia leucopénica, leucemia linfática, leucemia linfoblástica, leucemia linfocítica, leucemia linfógena, leucemia linfoide, leucemia celular de linfosarcoma, leucemia de mastocitos, leucemia megacariocítica, leucemia micromieloblástica, leucemia monocítica, leucemia mieloblástica, leucemia mielocítica, leucemia granulocítica mieloide, leucemia mielomonocítica, leucemia de Naegeli, leucemia de células plasmáticas, mieloma múltiple, leucemia plasmacítica, leucemia promielocítica, leucemia de células de Rieder, leucemia de Schilling, leucemia de células troncales, leucemia subleucémica o leucemia de células indiferenciadas.

**[38]** Los métodos y usos de la invención incluyen la administración de una cantidad de un conjugado dado a conocer en este documento, efectiva para tratar el tumor o cáncer. En aspectos particulares, un método o uso inhibe o reduce la recaída, crecimiento, progresión,

empeoramiento o metástasis del tumor o cáncer; resulta en la destrucción parcial o completa de la masa celular, volumen, tamaño o número de células neoplásicas, tumorales, cancerosas o malignas, al estimular, inducir o incrementar la necrosis, lisis o apoptosis de células neoplásicas, tumorales, cancerosas o malignas, reducir el tamaño del volumen o masa celular de la neoplasia, tumor, cáncer o malignidad, inhibir o prevenir la progresión o un incremento en el volumen, masa, tamaño o número de células de la neoplasia, tumor, cáncer o malignidad, o prolongar la esperanza de vida; resulta en la reducción o disminución de la severidad, duración o frecuencia de un síntoma o complicación adversos asociados con u ocasionados por la neoplasia, tumor, cáncer o malignidad; o el método resulta en la reducción o disminución del dolor, incomodidad, náusea, debilidad o letargo, o resulta en un incremento de la energía, apetito, movilidad mejorada o el bienestar psicológico.

**[39]** Tal como se utiliza en este documento, el término "apoptosis" se refiere a muerte celular programada, y los cambios asociados en la fisiología celular, por ejemplo, fragmentación de ácido nucleico, activación de caspasas, etc., como se entiende en la materia. El término "catástrofe" significa la muerte celular que resulta de un error en el proceso mitótico. En la catástrofe hay menos atributos presentes que son característicos de la apoptosis, por ejemplo, activación de caspasas, condensación del cromosoma, etc.

**[40]** Los términos "tratar" o "tratamiento" se refieren a cualquier indicio de éxito en la terapia o mejora de una lesión, enfermedad, patología o padecimiento, incluyendo cualquier parámetro objetivo o subjetivo tal como abatimiento, remisión, disminución de síntomas o hacer que la lesión, patología o padecimiento sea más tolerable para el paciente, ralentizar la tasa de degeneración o declinación, hacer que el punto final de la degeneración sea menos debilitante, mejorar el bienestar físico o mental del paciente. El tratamiento o mejora de síntomas puede basarse en parámetros objetivos o subjetivos, incluyendo los resultados de una exploración física, exámenes neuropsiquiátricos y/o una evaluación psiquiátrica. El término "tratar", y las

conjugaciones del mismo, pueden incluir la prevención de una lesión, patología, padecimiento o enfermedad. En las modalidades, el tratamiento es la prevención. En las modalidades, el tratamiento no incluye la prevención.

**[41]** "Tratar" o "tratamiento", tal como se utilizan en este documento (y como bien se entiende en la materia), también incluyen en sentido amplio cualquier enfoque para obtener resultados favorables o deseados en la condición de un sujeto, incluyendo los resultados clínicos. Los resultados clínicos favorables o deseados pueden incluir, pero no se limitan a, el alivio o mejora de uno o más síntomas o padecimientos, la disminución del grado de una enfermedad, la estabilización (es decir, el no empeoramiento) del estado patológico, la prevención de la transmisión o propagación de una enfermedad, el retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad, la mejora o paliación del estado patológico, la disminución de la reaparición de la enfermedad, y la remisión, ya sea parcial o total y detectable o indetectable. En otras palabras, el "tratamiento", tal como se utiliza en este documento, incluye la curación, mejora o prevención de una enfermedad. El tratamiento puede prevenir que ocurra la enfermedad, inhibir la propagación de la enfermedad, aliviar los síntomas de la enfermedad, eliminar total o parcialmente la causa subyacente de la enfermedad, acortar la duración de la enfermedad, o realizar una combinación de estas acciones.

**[42]** "Tratar" y "tratamiento", tal como se utilizan en este documento, incluyen el tratamiento profiláctico. Los métodos de tratamiento incluyen administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente activo. La etapa de administración puede consistir en una sola administración, o puede incluir una serie de administraciones. La duración del periodo de tratamiento depende de una diversidad de factores, tales como la severidad del padecimiento, la edad del paciente, la concentración del agente activo, la actividad de las composiciones utilizadas en el tratamiento, o una combinación de las mismas. También se apreciará que la dosificación efectiva de un agente, utilizada para el tratamiento o profilaxis, puede incrementarse o disminuirse

en el transcurso de un régimen de tratamiento o profilaxis particular. Los cambios en la dosificación pueden resultar y hacerse evidentes por ensayos de diagnóstico estándar conocidos en la materia. En algunos casos, puede requerirse una administración persistente. Por ejemplo, las composiciones se administran al sujeto en una cantidad y por una duración suficientes para tratar al paciente. En las modalidades, el tratamiento no es un tratamiento profiláctico.

**[43]** En algunas modalidades, el sujeto es un mamífero. En algunas modalidades, el sujeto es humano.

**[44]** Tal como se utilizan en este documento, los términos "paciente", "sujeto" o "sujeto en necesidad de ello" se refieren a un organismo vivo que adolece o es propenso a adolecer de una enfermedad o padecimiento que puede tratarse por la administración de una composición farmacéutica, como se provee en este documento. Los ejemplos no limitantes incluyen humanos, otros mamíferos, bovinos, ratas, ratones, perros, monos, cabras, ovejas, vacas, ciervos, gatos y otros animales no mamíferos. En algunas modalidades, el sujeto es humano.

**[45]** En algunas modalidades, el método además comprende administrar al sujeto un agente anticanceroso y/o un agente inmunológico. En algunas modalidades, el método además comprende administrar al sujeto un agente anticanceroso y un agente inmunológico. En algunas modalidades, el método además comprende administrar al sujeto un agente anticanceroso o un agente inmunológico.

**[46]** Tal como se utiliza en este documento, el término "agente inmunológico" hace referencia a fármacos o compuestos que pueden modificar la respuesta inmune, ya sea al intensificar o suprimir el sistema inmunitario. Se utilizan para combatir infecciones, y prevenir y tratar determinadas enfermedades. Los agentes inmunológicos incluyen fármacos utilizados para la inmunosupresión, con el fin de prevenir el rechazo de injertos. Pueden utilizarse como agentes quimioterapéuticos contra el cáncer.

**[47]** Un "agente anticanceroso" o "agente contra el cáncer", tal como se utiliza en este

documento, se refiere a una molécula (por ejemplo, compuesto, péptido, proteína o ácido nucleico) utilizada para tratar el cáncer a través de la destrucción o inhibición de células o tejidos cancerosos. Los agentes anticancerosos pueden ser selectivos para determinados tipos de cáncer o determinados tejidos. En las modalidades, los agentes anticancerosos en este documento pueden incluir inhibidores epigenéticos e inhibidores de cinasas múltiples. En algunas modalidades, el agente anticanceroso es un inhibidor de serina treonina cinasas.

**[48]** Los términos "agente anticanceroso" y "agente contra el cáncer" se utilizan en concordancia con su significado ordinario, y se refieren a una composición (por ejemplo, compuesto, fármaco, antagonista, inhibidor, modulador) que tiene propiedades antineoplásicas, o la capacidad de inhibir el crecimiento o proliferación de células. En algunas modalidades, un agente anticanceroso es un quimioterapéutico. En algunas modalidades, un agente anticanceroso es un agente identificado en este documento, que tiene utilidad en métodos de tratamiento del cáncer. En algunas modalidades, un agente anticanceroso es un agente aprobado por la FDA, o agencia reguladora similar de un país distinto a EUA, para tratar el cáncer. Los ejemplos de agentes anticancerosos incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de MEK (por ejemplo, MEK1, MEK2, o MEK1 y MEK2) (por ejemplo, XL518, CI-1040, PD035901, selumetinib/AZD6244, GSK1120212/ trametinib, GDC-0973, ARRY-162, ARRY-300, AZD8330, PD0325901, U0126, PD98059, TAK-733, PD318088, AS703026, BAY 869766), agentes alquilantes (por ejemplo, ciclofosfamida, ifosfamida, clorambucilo, busulfán, melfalán, mecloretamina, uramustina, tiotepa, nitrosoureas, mostazas nitrogenadas (por ejemplo, mecloroetamina, ciclofosfamida, clorambucilo, melfalán), etilenimina y metilmelaminas (por ejemplo, hexametilmelamina, tiotepa), alquil sulfonatos (por ejemplo, busulfán), nitrosoureas (por ejemplo, carmustina, lomusitina, semustina, estreptozocina), triazenos (decarbazona)), antimetabolitos (por ejemplo, 5-azatioprina, leucovorina, capecitabina, fludarabina, gemcitabina, pemetrexed, raltitrexed, análogos de ácido fólico (por ejemplo, metotrexato), o análogos de pirimidinas (por

ejemplo, fluorouracilo, floxouridina, citarabina), análogos de purinas (por ejemplo, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina), etc.), alcaloides vegetales (por ejemplo, vincristina, vinblastina, vinorelbina, vindesina, podofilotoxina, paclitaxel, docetaxel, etc.), inhibidores de topoisomerasas (por ejemplo, irinotecán, topotecán, amsacrina, etopósido (VP16), fosfato de etopósido, tenipósido, etc.), antibióticos antitumorales (por ejemplo, doxorubicina, adriamicina, daunorubicina, epirubicina, actinomicina, bleomicina, mitomicina, mitoxantrona, plicamicina, etc.), compuestos a base de platino (por ejemplo, cisplatino, oxaloplatino, carboplatino), antracenediona (por ejemplo, mitoxantrona), urea sustituida (por ejemplo, hidroxiaurea), derivado de metil hidrazina (por ejemplo, procarbazona), supresor adrenocortical (por ejemplo, mitotano, aminoglutetimida), epipodofilotoxinas (por ejemplo, etopósido), antibióticos (por ejemplo, daunorubicina, doxorubicina, bleomicina), enzimas (por ejemplo, L-asparaginasa), inhibidores de la señalización de proteína cinasas activadas por mitógenos (por ejemplo, U0126, PD98059, PD184352, PD0325901,ARRY-142886, SB239063, SP600125, BAY 43-9006, wortmanina o LY294002, inhibidores de Syk, inhibidores de mTOR, anticuerpos (por ejemplo, Rituxan), gosifol, Genasense, polifenol E, clorofusina, ácido retinoico todo trans (ATRA), briostatina, ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TRAIL), 5-aza-2'-desoxicitidina, ácido retinoico todo trans, doxorubicina, vincristina, etopósido, gemcitabina, imatinib (Gleevec.RTM.), geldanamicina, 17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina (17-AAG), flavopiridol, LY294002, bortezomib, trastuzumab, BAY 11-7082, PKC412, PD184352, 20-epi-1,25 dihidroxivitamina D3; 5-etiniluracilo; abiraterona; aclarrubicina; acilfulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleucina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozol; andrografólido; inhibidores de la angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; antiproteína morfogenética dorsalizante-1; antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestrógeno; antineoplastón; oligonucleótidos antisentido; glicinato de afidicolina; moduladores de genes de

apoptosis; reguladores de apoptosis; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA; arginina desaminasa; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetrón; azatoxina; azatirosina; derivados de bacatina III; balanol; batimastat; antagonistas de BCR/ABL; benzoclorinas; benzoilestaurosporina; derivados beta lactámicos; beta-aletina; betaclamicina B; ácido betulínico; inhibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilespermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesina; breflato; bropirimina; budotitano; butionin sulfoximina; calcipotriol; calfofostina C; derivados de camptotecina; canaripox IL-2; capecitabina; carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor derivado de cartílago; carzelesina; inhibidores de caseína cinasa (ICOS); castanoespermina; cecropina B; cetorelix; clorinas; cloroquinoxalin sulfonamida; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B; combretastatina A4; análogo de combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol; criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatam; cipemycina; ocfosfato de citarabina; factor citolítico; citostatina; dacliximab; decitabina; deshidrodemnina B; deslorrelina; dexametasona; dexifosfamida; dexrazoxano; dexverapamil; diazicuona; didemnina B; didox; dietilnorespermina; dihidro-5-azacitidina; 9-dioxamicina; difenil espiromustina; docosanol; dolasetrón; doxifluridina; droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebseleno; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflornitina; elemeno; emitefur; epirubicina; epristerida; análogo de estramustina; agonistas de estrógenos; antagonistas de estrógenos; etanidazol; fosfato de etopósido; exemestano; fadrozol; fazarabina; fenretinida; filgrastim; finasterida; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; clorhidrato de fluorodaunorrunicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; texafirina de gadolinio; nitrato de galio; galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutatión; hepsulfamo; heregulina; hexameten bisacetamida; hipericina; ácido ibandrónico; idarrubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofofina; ilomastat; imidazoacridonas; imiquimod; péptidos inmunoestimulantes; inhibidor del receptor del factor 1 de crecimiento similar

a insulina; agonistas de interferón; interferones; interleucinas; iobenguano; yododoxorrubicina; ipomeanol, 4-; iroplact; irsogladina; isobengazol; isohomohalicondrina B; itasetrón; jasplakinolida; kahalalida F; triacetato de lamelarina-N; lanreótido; leinamicina; lenograstim; lentinan sulfato; leptolstatina; letrozol; factor inhibidor de leucemia; interferón alfa de leucocitos; leuprolida +  
5 estrógeno + progesterona; leuprorrelina; levamisol; liarozol; análogo de poliamina lineal; péptido disacárido lipofílico; compuestos lipofílicos de platino; lisoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona; lovastatina; loxorribina; lurtotecán; texafirina de luteo; lisofilina; péptidos líticos; maitansina; manostatina A; marimastat; masoprocol; maspina; inhibidores de matrilisina; inhibidores de metaloproteinasas de matriz; menogaril; merbarona;  
10 meterelina; metioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; RNA bicatenario no coincidente; mitoguazona; mitolactol; análogos de mitomicina; mitonafida; mitotoxina; factor de crecimiento de fibroblastos-saporina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostim; anticuerpo monoclonal, gonadotrofina coriónica humana; monofosforil lípido A + pared celular de miobacteria sk; mopidamol; inhibidor de genes de resistencia a fármacos  
15 múltiples; terapia basada en el supresor tumoral múltiple 1; agente anticanceroso de mostaza; micaperóxido B; extracto de pared celular micobacteriana; miriaporona; N-acetildinalina; benzamidas N-sustituidas; nafarelina; nagrestip; naloxona + pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstim; nedaplatino; nemorrubicina; ácido neridrónico; endopeptidasa neutra; nilutamida; nisamicina; moduladores de óxido nítrico; antioxidante de nitrógeno; nitrulina; O6-bencilguanina;  
20 octreótido; okicenona; oligonucleótidos; onapristona; ondansetrón; oracina; inductor oral de citocinas; ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina; palauamina; palmitoilrizoxina; ácido pamidrónico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazeliptina; pegaspargasa; peldesina; polisulfato sódico de pentosán; pentostatina; pentrozol; perflubron; perfosfamida; alcohol perillílico; fenazinomicina; fenilacetato; inhibidores de fosfatasa; picibanil; clorhidrato de  
25 pilocarpina; pirarrubicina; piritrexim; placetina A; placetina B; inhibidor del activador de

plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo de platino-triamina; porfimer  
 sódico; porfiromicina; prednisona; propil bis-acridona; prostaglandina J2; inhibidores del  
 proteosoma; modulador inmunitario a base de proteína A; inhibidor de proteína cinasa C;  
 inhibidores de proteína cinasa C, microalgal; inhibidores de proteína tirosina fosfatasas;  
 5 inhibidores de purina nucleósido fosforilasa; purpurinas; pirazoloacridina; conjugado de  
 hemoglobina polioxietilada piridoxilada; antagonistas de raf; raltitrexed; ramosetrón; inhibidores  
 de farnesil proteína transferasa de ras; inhibidores de ras; inhibidor de ras-GAP; reteliptina  
 desmetilada; etidronato de renio Re 186; rizoxina; ribozimas; retinamida RII; rogletimida;  
 rohitukina; romurtida; roquinimex; rubiginona B1; ruboxilo; safingol; saintopina; SarCNU; sarcofitol  
 10 A; sargramostim; miméticos de Sdi 1; semustina; inhibidor derivado de senescencia 1;  
 oligonucleótidos de sentido; inhibidores de la transducción de señales; moduladores de la  
 transducción de señales; proteína de unión a antígenos monocatenarios; sizofurano; sobuzoxano;  
 borocaptato sódico; fenilacetato sódico; solverol; proteína de unión a somatomedina; sonermina;  
 ácido esparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentina; espongistatina 1;  
 15 escualamina; inhibidor de células troncales; inhibidores de la división de células troncales;  
 estipiamida; inhibidores de estromelisina; sulfinosina; antagonista de péptido intestinal vasoactivo  
 superactivo; suradista; suramina; swainsonina; glucosaminoglicanos sintéticos; talimustina;  
 metyoduro de tamoxifeno; tauromustina; tazaroteno; tecogalán sódico; tegafur; telurapirilio;  
 inhibidores de telomerasas; temoporfina; temozolomida; tenipósido; tetraclorodecaóxido;  
 20 tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoyetina; mimético de trombopoyetina; timalfasina;  
 agonista del receptor de timopoyetina; timotrinano; hormona estimulante de tiroides; etil  
 etiopurpurina de estaño; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; factor de  
 células troncales totipotentes; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina;  
 trimetrexato; triptorrelina; tropisetrón; turosterida; inhibidores de tirosina cinasas; trifostinas;  
 25 inhibidores de UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital;

antagonistas del receptor de urocinasa; vaporeótido; variolina B; sistema de vectores, terapia génica eritrocitaria; velaresol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorrelbina; vinxaltina; vitaxina; vorozol; zanoterona; zeniplatino; zilascorb; estimalámero de zinostatina, adriamicina, dactinomicina, bleomicina, vinblastina, cisplatino, acivicina; aclarrubicina; clorhidrato de acodazol; acronina; adozelesina; aldesleucina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglutetimida; amsacrina; anastrozol; antramicina; asparaginasa; asperlina; azacitidina; azetepa; azotomicina; batimastat; benzodepa; bicalutamida; clorhidrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar sódico; bropirimina; busulfán; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetimer; carboplatino; carmustina; clorhidrato de carrubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucilo; cirolemicina; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina; dacarbazina; clorhidrato de daunorrubicina; decitabina; dexormaplatino; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diazicuona; doxorubicina; clorhidrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; clorhidrato de eflornitina; elsamitrucina; enloplatino; enpromato; epipropidina; clorhidrato de epirubicina; erbulozol; clorhidrato de esorubicina; estramustina; fosfato sódico de estramustina; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; clorhidrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; fluorocitabina; fosquidona; fostriecina sódica; gemcitabina; clorhidrato de gemcitabina; hidroxiiurea; clorhidrato de idarrubicina; ifosfamida; iimofosina; interleucina I1 (incluyendo interleucina recombinante II, o rIL.sub.2), interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-n1; interferón alfa-n3; interferón beta-1a; interferón gamma-1b; iroplatino; clorhidrato de irinotecán; acetato de lanreótido; letrozol; acetato de leuprolida; clorhidrato de liarozol; lometrexol sódico; lomustina; clorhidrato de losoxantrona; masoprocol; maitansina; clorhidrato de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalán; menogaril; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato sódico; metoprina; meturedopa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilina; mitomalcina;

mitomicina; mitosper; mitotano; clorhidrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamicina; ormaplatino; oxisuran; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromán; piposulfán; clorhidrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfimer sódico; porfiromicina; prednimustina; clorhidrato de procarbazona; puromicina; clorhidrato de puromicina; pirazofurina; riboprina; rogletimida; safingol; clorhidrato de safingol; semustina; simtrazeno; esparfosato sódico; esparsomicina; clorhidrato de espirogermanio; espiromustina; espiroplatino; estreptonigrina; estreptozocina; sulofenur; talisomicina; tecogalán sódico; tegafur; clorhidrato de teloxantrona; temoporfina; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorrelina; clorhidrato de tubulozol; mostaza uracilo; uredepa; vaporeótido; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; clorhidrato de zorrubicina, agentes que arrestan las células en las fases G2-M y/o modulan la formación o estabilidad de microtúbulos (por ejemplo, Taxol.TM (es decir, paclitaxel), Taxotere.TM, compuestos que comprenden el esqueleto de taxano, erbulozol (es decir, R-55104), dolastatina 10 (es decir, DLS-10 y NSC-376128), isetionato de mivobulina (es decir, como CI-980), vincristina, NSC-639829, discodermolida (es decir, como NVP-XX-A-296), ABT-751 (Abbott, es decir, E-7010), altorhirtinas (por ejemplo, altorhirtina A y altorhirtina C), espongistatinas (por ejemplo, espongistatina 1, espongistatina 2, espongistatina 3, espongistatina 4, espongistatina 5, espongistatina 6, espongistatina 7, espongistatina 8 y espongistatina 9), clorhidrato de cemadotina (es decir, LU-103793 y NSC-D-669356), epotilonas (por ejemplo, epotilona A, epotilona B, epotilona C (es decir, desoxiepotilona A o dEpoA), epotilona D (es decir, KOS-862, dEpoB, y desoxiepotilona B), epotilona E, epotilona F, N-óxido de epotilona B, N-óxido de epotilona A, 16-aza-epotilona B, 21-aminoepotilona B (es decir, BMS-

310705), 21-hidroxiopotilona D (es decir, desoxipotilona F y dEpoF), 26-fluoropotilona, auristatina PE (es decir, NSC-654663), soblidotina (es decir, TZT-1027), LS-4559-P (Farmacia, es decir, LS-4577), LS-4578 (Farmacia, es decir, LS-477-P), LS-477 (Farmacia), LS-4559 (Farmacia), RPR-112378 (Aventis), sulfato de vincristina, DZ-3358 (Daiichi), FR-182877 (Fujisawa, es decir, WS-9885B), GS-164 (Takeda), GS-198 (Takeda), KAR-2 (Hungarian Academy of Sciences), BSF-223651 (BASF, es decir, ILX-651 y LU-223651), SAH-49960 (Lilly/Novartis), SDZ-268970 (Lilly/Novartis), AM-97 (Armad/Kyowa Hakko), AM-132 (Armad), AM-138 (Armad/Kyowa Hakko), IDN-5005 (Indena), criptoficina 52 (es decir, LY-355703), AC-7739 (Ajinomoto, es decir, AVE-8063A y CS-39.HCl), AC-7700 (Ajinomoto, es decir, AVE-8062, AVE-8062A, CS-39-L-Ser.HCl y RPR-258062A), vitilevuamida, tubulisina A, canadensol, centaureidina (es decir, NSC-106969), T-138067 (Tularik, es decir, T-67, TL-138067 y TI-138067), COBRA-1 (Parker Hughes Institute, es decir, DDE-261 y WHI-261), H10 (Kansas State University), H16 (Kansas State University), oncocidina A1 (es decir, BTO-956 y DIME), DDE-313 (Parker Hughes Institute), fijianolida B, laulimalida, SPA-2 (Parker Hughes Institute), SPA-1 (Parker Hughes Institute, es decir, SPIKET-P), 3-IAABU (Cytoskeleton/Mt. Sinai School of Medicine, es decir, MF-569), narcosina (también conocida como NSC-5366), nascapina, D-24851 (Asta Medica), A-105972 (Abbott), hemiasterlina, 3-BAABU (Cytoskeleton/Mt. Sinai School of Medicine, es decir, MF-191), TMPN (Arizona State University), acetilacetato de vanadoceno, T-138026 (Tularik), monsatrol, Inanocina (es decir, NSC-698666), 3-IAABE (Cytoskeleton/Mt. Sinai School of Medicine), A-204197 (Abbott), T-607 (Tularik, es decir, T-900607), RPR-115781 (Aventis), eleuterobinas (tales como desmetileleuterobina, desaetileleuterobina, Isoeleuterobina A y Z-eleuterobina), caribaeosida, caribaeolina, halicondrina B, D-64131 (Asta Medica), D-68144 (Asta Medica), diazonamida A, A-293620 (Abbott), NPI-2350 (Nereus), tacalonolida A, TUB-245 (Aventis), A-259754 (Abbott), diozostatina, (-)-fenilistina (es decir, NSCL-96F037), D-68838 (Asta Medica), D-68836 (Asta Medica), mioseverina B, D-43411 (Zentaris, es decir, D-81862), A-

289099 (Abbott), A-318315 (Abbott), HTI-286 (es decir, SPA-110, sal de trifluoroacetato) (Wyeth), D-82317 (Zentaris), D-82318 (Zentaris), SC-12983 (NCI), fosfato sódico de resverastatina, BPR-OY-007 (National Health Research Institutes) y SSR-250411 (Sanofi)), esteroides (por ejemplo, dexametasona), finasterida, inhibidores de aromatasa, agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) tales como goserelina o leuprolida, adrenocorticosteroides (por ejemplo, prednisona), progestágenos (por ejemplo, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de medroxiprogesterona), estrógenos (por ejemplo, dietilestilbestrol, etinil estradiol), antiestrógenos (por ejemplo, tamoxifeno), andrógenos (por ejemplo, propionato de testosterona, fluoximesterona), antiandrógenos (por ejemplo, flutamida), inmunoestimulantes (por ejemplo, bacilo de Calmette-Guérin (BCG), levamisol, interleucina-2, interferón alfa, etc.), anticuerpos monoclonales (por ejemplo, anticuerpos monoclonales anti-CD20, anti-HER2, anti-CD52, anti-HLA-DR y anti-VEGF), inmunotoxinas (por ejemplo, conjugado de anticuerpo monoclonal anti-CD33 y calicheamicina, conjugado de anticuerpo monoclonal anti-CD22 y exotoxina de pseudomonas, etc.), inmunoterapia (por ejemplo, inmunoterapia celular, terapia con anticuerpos, terapia con citocinas, inmunoterapia combinada, etc.), radioinmunoterapia (por ejemplo, anticuerpo monoclonal anti-CD20 conjugado con  $^{111}\text{In}$ ,  $^{90}\text{Y}$  o  $^{131}\text{I}$ , etc.), inhibidores de puntos de control inmunitario (por ejemplo, bloqueo de CTLA4, inhibidores de PD-1, inhibidores de PD-L1, etc.), triptolida, homoharringtonina, dactinomicina, doxorubicina, epirubicina, topotecán, itraconazol, vindesina, cerivastatina, vincristina, desoxiadenosina, sertralina, pitavastatina, irinotecán, clofazimina, 5-noniloxitriptamina, vemurafenib, dabrafenib, erlotinib, gefitinib, inhibidores de EGFR, terapia o terapéutica orientada al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (por ejemplo, gefitinib (Iressa <sup>TM</sup>), erlotinib (Tarceva <sup>TM</sup>), cetuximab (Erbix <sup>TM</sup>), lapatinib (Tykerb <sup>TM</sup>), panitumumab (Vectibix <sup>TM</sup>), vandetanib (Caprelsa <sup>TM</sup>), afatinib/BIBW2992, CI-1033/canertinib, neratinib/HKI-272, CP-724714, TAK-285, AST-1306, ARRY334543, ARRY-380, AG-1478, dacomitinib/PF299804, OSI-420/desmetil erlotinib,

AZD8931, AEE788, pelitinib/EKB-569, CUDC-101, WZ8040, WZ4002, WZ3146, AG-490, XL647, PD153035, BMS-599626), sorafenib, imatinib, sunitinib, dasatinib o similares.

**[49]** En algunas modalidades, el agente anticanceroso es un inhibidor de serina/treonina cinasas, cuyos ejemplos no limitantes son (d-Bpa)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg) (SEQ ID NO:16), (d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg)(d-Bpa)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha) (SEQ ID NO: 17), (d-Bpa)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg) (SEQ ID NO: 18), (d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Bpa)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha) (SEQ ID NO: 19), (d-Cha)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Bpa)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg) (SEQ ID NO: 20), (d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg)(d-Cha)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Bpa) (SEQ ID NO: 21), (d-Cha)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Bpa)(d-Arg)(d-Arg) (d-Gln) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (SEQ ID NO: 22), (d-Arg) (d-Arg) (d-Gln) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Cha) (d-Phe-2,3,4,5,6-F) (d-Ser)(d-Trp)(d-Ser) (d-Bpa) (SEQ ID NO: 23), (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Cha) (d-Phe-2,3,4,5,6-F) (d-Ser) (d-Trp)(d-Ser)(d-Bpa) (SEQ ID NO: 24), (d-Cha)(d-Phe-2,3,4,5,6-F) (d-Ser) (d-Trp)(d-Ser)(d-Bpa)(d-Arg)(d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (SEQ ID NO: 25), (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Bpa) (d-Ser)(d-Trp)(d-Ser) (d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha) (SEQ ID NO: 26), (d-Bpa) (d-Ser) (d-Trp)(d-Ser) (d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (SEQ ID NO: 27), (d-Arg)(d-Arg)(d-Bpa) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha) (SEQ ID NO: 28) (d-Cha) (d-Phe-2,3,4,5,6-F) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Bpa) (d-Arg)(d-Arg) (SEQ ID NO: 29) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Bpa) (d-Arg)(d-Trp) (d-Arg) (d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha) (SEQ ID NO: 30), (d-Cha) (d-Phe-2,3,4,5,6-F) (d-Arg)(d-Trp) (d-Arg) (d-Bpa) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (SEQ ID NO: 31), (d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Bpa) (d-Arg)(d-Trp)(d-Arg) (d-Phe-2,3,4,5,6-F) (d-Cha) (SEQ ID NO: 32), (d-Cha) (d-Phe-2,3,4,5,6-F) (d-Arg) (d-Trp)(d-Arg) (d-Bpa) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (SEQ ID NO: 33), (d-Arg) (d-Arg)(d-

Arg)(d-Bpa)(d-Arg)(d-Arg) (d-Arg) (d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha) (SEQ ID NO: 34) y (d-Cha) (d-Phe-2,3,4,5,6-F) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (d-Bpa) (d-Arg) (d-Arg) (d-Arg) (SEQ ID NO: 35).

**[50]** En algunas modalidades, el inhibidor de serina/treonina cinasas es "CBP501", un compuesto peptídico que comprende (d-Bpa)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg) (SEQ ID NO: 16). En algunas modalidades, CBP501 es una sal farmacéutica. En algunas modalidades, CBP501 es una sal de acetato de H-(D)p-benzoilfenilalanil-(D)seril-(D)triptofanil-(D)seril- (D)pentafluorofenilalanil-(D)ciclohexilalanil-(D)arginil- (D)arginil-(D)arginil-(D)glutaminil-(D)arginil-(D)arginina.

**[51]** En algunas modalidades, en un método o uso se emplea un agente activador de células T. Los ejemplos no limitantes de agentes activadores de células T incluyen agentes que se orientan a CD28 (antígeno de diferenciación celular 28, también conocido como Tp44, glucoproteína de superficie específica de células T, antígeno CD28, molécula CD28), OX40 (superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral, miembro 4, TNFRSF4, también conocido como receptor de OX40L, antígeno **OX40**, TXGP1L), GITR (receptor de factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides), CD137 (también conocido como 4-1BB), CD27 (también conocido como TNFRSF7, Tp55), y HVEM (mediador de entrada de herpesvirus, también conocido como CD270, TNFRSF14).

**[52]** Los agentes activadores de células T representativos incluyen ligandos que se unen a estos objetivos, por ejemplo, los ligandos de CD28, OX40, GITR, CD137, CD27 y HVEM. Los agentes activadores de células T representativos también incluyen anticuerpos que se unen a estos objetivos, por ejemplo, los anticuerpos anti-CD28, anti-OX40, anti-GITR, anti-CD137, anti-CD27 y anti-HVEM.

**[53]** En algunas modalidades, en un método o uso se emplea un inhibidor de puntos de control inmunitarios. Los ejemplos no limitantes de inhibidores de puntos de control inmunitarios incluyen agentes que se orientan a CTLA-4 (proteína 4 asociada a linfocitos T

citotóxicos, también conocida como CD152), PD1 (muerte celular programada 1, también conocida como CD279, SLEB2, HPD-1, HSLE1), PDL1 (ligando de muerte programada 1, también conocido como CD274), B7-H1 (homólogo 1 de B7), ligando de muerte celular programada 1, ligando 1 de PDCD1), PDL2 (ligando 2 de muerte celular programada 1), VISTA (supresor de Ig de dominio V de activación de células T, también conocido como, B7-H5, Gi24, Diesl y SISP1), TIM3 (dominio 3 de inmunoglobulina y mucina de células T), LAG-3 (gen de activación de linfocitos 3, también conocido como CD223) o BTLA (atenuador de linfocitos B y T, también conocido como CD272).

**[54]** Los inhibidores de puntos de control inmunitarios representativos incluyen ligandos que se unen a estos objetivos, por ejemplo, los ligandos de CTLA-4, PD1, PDL1, PDL2, VISTA, TIM3, LAG-3 y BTLA. Los inhibidores de puntos de control inmunitarios representativos, o agentes inmunológicos, también incluyen anticuerpos que se unen a estos objetivos, por ejemplo, los anticuerpos anti-CTLA-4, anti-PD1, anti-PDL1, anti-PDL2, anti-VISTA, anti-TIM3, anti-LAG-3 y anti-BTLA.

**[55]** En algunas modalidades, el agente inmunológico es un anticuerpo. En algunas modalidades, el agente inmunológico es un anticuerpo que se une a un inhibidor de puntos de control inmunitarios, cuyos ejemplos no limitantes incluyen un anticuerpo anti-CTLA-4, anti-PD1, anti-PD-L1, anti-PDL2, anti-VISTA, anti-TIM3, anti-LAG-3 o anti-BTLA. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo anti-CTLA-4.

**[56]** En algunas modalidades, el método además comprende administrar un agente de daño a ácidos nucleicos o agente antiproliferativo, cuyos ejemplos limitantes incluyen un fármaco que contiene platino, tal como cisplatino, carboplatino, nedaplatino, mitaplatino, satraplatino, picoplatino, triplatino, miriplatino u oxaliplatino. En algunas modalidades, el fármaco que contiene platino es cisplatino.

**[57]** En algunas modalidades, los métodos y usos incluyen o consisten en la

administración de un fármaco que contiene platino, cis-platino (cisplatino), carboplatino, oxaliplatino, pemetrexed, gemcitabina, 5-fluorouracilo (5-FU), rebecamicina, adriamicina (ADR), bleomicina (Bleo), pepleomicina, cisplatino, cisplatino o *cis*-diaminodicloroplatino(II) (CDDP), oxaliplatino o camptotecina (CPT), ciclofosfamida, azatioprina, ciclosporina A, prednisolona, melfalano, clorambucilo, mecloretamina, busulfano, metotrexato, 6-mercaptopurina, tioguanina, 5-fluorouracilo, citosina arabinósido, AZT, 5-azacitidina (5-AZC) o un compuesto relacionado con 5-azacitidina, actinomicina D, mitramicina, mitomicina C, carmustina, lomustina, semustina, estreptozotocina, hidroxiurea, cisplatino, mitotano, procarbazona, dacarbazina, un taxano, vinblastina, vincristina, doxorubicina, dibromomanol, radiación o un radioisótopo. Los ejemplos no limitantes particulares de radiación incluyen la radiación UV, radiación IR, rayos X o radiación alfa, beta o gamma. Los ejemplos no limitantes particulares de radioisótopos incluyen  $I^{131}$ ,  $I^{125}$ ,  $Sr^{89}$ ,  $Sm^{153}$ ,  $Y^{90}$  o  $Lu^{177}$ .

**[58]** Los métodos y usos de la invención son aplicables a un trastorno de proliferación o hiperproliferación celular, o a la proliferación celular indeseable. En modalidades particulares, un trastorno de proliferación celular comprende un tumor o cáncer. En modalidades más particulares, un trastorno de proliferación celular comprende un tumor o cáncer metastásico.

**[59]** Para cualquier compuesto descrito en este documento, la cantidad terapéuticamente efectiva puede determinarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Las concentraciones objetivo serán aquellas concentraciones, del compuesto o compuestos activos, que sean capaces de lograr los métodos descritos en este documento, al medirse utilizando los métodos descritos en este documento o conocidos en la materia.

**[60]** Como es bien sabido en la materia, las cantidades terapéuticamente efectivas, para su uso en humanos, también pueden determinarse a partir de modelos animales. Por ejemplo, puede formularse una dosis para humanos para alcanzar una concentración que se haya demostrado efectiva en animales. La dosificación en humanos puede ajustarse al monitorear la

efectividad de los compuestos, y al ajustar la dosificación al alza o a la baja, como se describe arriba. El ajuste de la dosis para lograr la máxima eficacia en humanos, con base en los métodos arriba descritos y en otros métodos, está dentro de las capacidades del experto en la materia.

**[61]** El término "cantidad terapéuticamente efectiva", tal como se utiliza en este documento, se refiere a aquella cantidad del agente terapéutico suficiente para mejorar el trastorno, como se describe arriba. Por ejemplo, para el parámetro determinado, una cantidad terapéuticamente efectiva mostrará un incremento o disminución de por lo menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 40%, 50%, 60%, 75%, 80%, 90%, o de por lo menos 100%. La eficacia terapéutica también puede expresarse como incremento o disminución "en veces". Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva puede tener un efecto de por lo menos 1.2 veces, 1.5 veces, 2 veces, 5 veces o más sobre un control.

**[62]** Las dosificaciones pueden variar dependiendo de los requerimientos del paciente y del compuesto que se emplea. La dosis administrada a un paciente, en el contexto de la presente divulgación, debe ser suficiente para producir una respuesta terapéutica favorable en el paciente con el paso del tiempo. El tamaño de la dosis también se determinará por la existencia, naturaleza y alcance de cualquier efecto secundario adverso. La determinación de la dosificación apropiada para una situación particular se encuentra dentro de la habilidad del profesional. Generalmente el tratamiento se inicia con dosificaciones más pequeñas que son inferiores a la dosis óptima del compuesto. A partir de ello, la dosificación se aumenta en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo según las circunstancias. Las cantidades e intervalos de dosificaciones pueden ajustarse individualmente, para proveer los niveles del compuesto administrado efectivos para la indicación clínica concreta que se esté tratando. Esto proveerá un régimen terapéutico que es acorde con la severidad del estado patológico del individuo.

**[63]** En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de aproximadamente 2 mg/kg o menos cada tres semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es

de 2 mg/kg o menos cada tres semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de por lo menos 2 mg/kg cada tres semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de 2 mg/kg cada tres semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 10 mg/kg cada tres semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de aproximadamente 1 mg/kg o menos cada dos semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de 1 mg/kg o menos cada dos semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de por lo menos 1 mg/kg cada dos semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de 1 mg/kg cada dos semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 10 mg/kg cada dos semanas. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de 1 mg/kg o menos cada semana. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de por lo menos 1 mg/kg cada semana. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de 1 mg/kg cada semana. En algunas modalidades, la dosis administrada al sujeto es de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 10 mg/kg cada semana.

**[64]** Tal como se utiliza en este documento, el término "administrar" significa administración oral, administración como supositorio, contacto tópico, administración intravenosa, parenteral, intraperitoneal, intramuscular, intralesión, intratecal, intranasal o subcutánea, o la implantación de un dispositivo de liberación lenta, por ejemplo, una minibomba osmótica, a un sujeto. La administración es por cualquier ruta, incluyendo parenteral y a través de mucosas (por ejemplo, bucal, sublingual, palatal, gingival, nasal, vaginal, rectal o transdérmica). La administración parenteral incluye, por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intraarteriolar, intradérmica, subcutánea, intraperitoneal, intraventricular e intracraneal. Otros modos de suministro incluyen, pero no se limitan a, el uso de formulaciones liposómicas, infusión intravenosa, parches transdérmicos, etc. En las modalidades, la administración no incluye la

administración de ningún agente activo distinto al conjugado. En algunas modalidades, la administración incluye el conjugado y un agente inmunológico. En algunas modalidades, la administración incluye el conjugado y un agente anticanceroso. En algunas modalidades, la administración incluye el conjugado, un agente inmunológico y un agente anticanceroso. En algunas modalidades, la administración incluye el conjugado, un agente inmunológico, un agente anticanceroso y un fármaco que contiene platino.

**[65]** En algunas modalidades, el conjugado se administra por vía intravenosa. En algunas modalidades, el conjugado se administra por vía intraperitoneal.

**[66]** En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada día. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada dos días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada tres días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada cuatro días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada cinco días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada seis días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada siete días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada ocho días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada nueve días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada diez días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada once días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada doce días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada trece días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada catorce días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto por lo menos cada catorce días. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada mes. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto por lo menos cada mes. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto cada dos meses. En algunas modalidades, el conjugado se administra al sujeto por lo menos cada dos meses. [

**[67]** "Coadministrar" significa que una composición, descrita en este documento, se administra al mismo tiempo, justo antes o justo después de la administración de una o más terapias adicionales. Los compuestos provistos en este documento pueden administrarse solos, o pueden coadministrarse al paciente. En la coadministración se pretende incluir la administración simultánea o en secuencia de los compuestos, individualmente o en combinación (más de un compuesto). De este modo, las preparaciones también pueden combinarse, cuando se desee, con otras sustancias activas (por ejemplo, para reducir la degradación metabólica). Las composiciones de la presente divulgación pueden suministrarse por vía transdérmica, por una ruta tópica, o formularse como barras aplicadoras, soluciones, suspensiones, emulsiones, geles, cremas, ungüentos, pastas, jaleas, pinturas, polvos y aerosoles.

**[68]** En algunas modalidades, se administran fármacos citotóxicos antes que el conjugado de unión a PS. En algunas modalidades, se administran fármacos citotóxicos por lo menos un día antes que el conjugado de unión a PS. En algunas modalidades, se administran fármacos citotóxicos por lo menos dos días antes que el conjugado de unión a PS. En algunas modalidades, se administran fármacos citotóxicos por lo menos tres días antes que el conjugado de unión a PS. En algunas modalidades, se administran fármacos citotóxicos por lo menos cuatro días antes que el conjugado de unión a PS. En algunas modalidades, se administran fármacos citotóxicos por lo menos cinco días antes que el conjugado de unión a PS. En algunas modalidades, se administran fármacos citotóxicos por lo menos seis días antes que el conjugado de unión a PS. En algunas modalidades, se administran fármacos citotóxicos por lo menos una semana antes que el conjugado de unión a PS.

**[69]** Una "célula", tal como se utiliza en este documento, se refiere a una célula que lleva a cabo una función metabólica u otra suficiente para preservar o replicar su DNA genómico. Una célula puede identificarse por métodos ampliamente conocidos en la materia, incluyendo, por ejemplo, la presencia de una membrana intacta, la tinción por un colorante particular, la

capacidad de producir progenie o, en el caso de un gameto, la capacidad de combinarse con un segundo gameto para producir una descendencia viable. Las células pueden incluir células procarióticas y eucarióticas. Las células procarióticas incluyen, pero no se limitan a las bacterias. Las células eucarióticas incluyen, pero no se limitan a, células de levaduras y células derivadas de plantas y animales, por ejemplo, células de mamíferos, insectos (por ejemplo, *Spodoptera*) y humanas. Las células pueden ser útiles cuando son naturalmente no adherentes, o se han tratado para que no se adhieran a las superficies, por ejemplo, por tratamiento con tripsina.

**[70]** El organismo modelo de cáncer, tal como se utiliza en este documento, es un organismo que exhibe un fenotipo indicativo de cáncer, o la actividad de los elementos que causan cáncer, dentro del organismo. El término cáncer se define arriba. Una amplia diversidad de organismos pueden servir como organismos modelo de cáncer, e incluyen, por ejemplo, células cancerosas y organismos mamíferos tales como roedores (por ejemplo, ratón o rata) y primates (tales como humanos). Las líneas celulares cancerosas están ampliamente comprendidas, por los expertos en la materia, como células que exhiben fenotipos o genotipos similares a los cánceres *in vivo*. Las líneas celulares cancerosas, tal como se utilizan en este documento, incluyen líneas celulares de animales (por ejemplo, ratones) y de humanos.

**[71]** Los términos "respuesta inmune" y similares se refieren, en el sentido habitual y acostumbrado, a una respuesta de un organismo que protege contra una enfermedad. La respuesta puede montarse por el sistema inmunitario innato o por el sistema inmunitario adaptativo, como es bien sabido en la materia.

**[72]** Los términos "modulación de la respuesta inmune" y similares se refieren a un cambio en la respuesta inmune de un sujeto, como consecuencia de la administración de un agente, por ejemplo, de un compuesto como se da a conocer en este documento, incluyendo las modalidades del mismo. Por consiguiente, una respuesta inmune puede activarse o desactivarse como consecuencia de la administración de un agente, por ejemplo, de un compuesto como se

da a conocer en este documento, incluyendo las modalidades del mismo.

**[73]** "Células B" o "linfocitos B" se refieren a su uso estándar en la materia. Las células B son linfocitos, un tipo de glóbulo blanco (leucocito), que se desarrolla a una célula plasmática (una "célula B madura"), la cual produce anticuerpos. Una "célula B inmadura" es una célula que puede desarrollarse a una célula B madura. Por lo general, las células pro B experimentan una reestructuración de cadenas pesadas de inmunoglobulinas para convertirse en células pre B, y posteriormente experimentan un reordenamiento de cadenas ligeras de inmunoglobulinas para convertirse en células B inmaduras. Las células B inmaduras incluyen células B T1 y T2.

**[74]** "Células T" o "linfocitos T", tal como se utilizan en este documento, son un tipo de linfocito (un subtipo de glóbulo blanco) que desempeña un papel central en la inmunidad mediada por células. Pueden distinguirse de otros linfocitos, tales como células B y células asesinas naturales, por la presencia de un receptor de células T en la superficie celular. Las células T incluyen, por ejemplo, células T asesinas naturales (NKT), linfocitos T citotóxicos (CTL), células T reguladoras (Treg) y células T cooperadoras. Los diferentes tipos de células T pueden distinguirse por el uso de agentes de detección de células T.

**[75]** Una "célula T de memoria" es una célula T que previamente ha encontrado y respondido a su antígeno afín durante una infección previa, un encuentro con cáncer o con una vacunación anterior. En un segundo encuentro con su antígeno afín, las células T de memoria pueden reproducirse (dividirse) para montar una respuesta inmune más rápida y potente que la primera vez que el sistema inmunitario respondió al patógeno.

**[76]** Una "célula T reguladora" o "célula T supresora" es un linfocito que modula el sistema inmunitario, mantiene la tolerancia a los autoantígenos, y previene las enfermedades autoinmunitarias.

**[77]** Un residuo de aminoácido en una proteína "corresponde" a un residuo determinado cuando ocupa la misma posición estructural esencial dentro de la proteína que el

residuo determinado.

**[78]** El término "aminoácido" hace referencia a aminoácidos que se presentan en la naturaleza y sintéticos, así como a análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de manera similar a los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos de origen natural son los codificados por el código genético, así como aquellos aminoácidos que se modifican posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina,  $\gamma$ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. Los análogos de aminoácidos se refieren a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido natural, es decir, un carbono  $\alpha$  que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metilsulfonio de metionina. Estos análogos tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o cadenas principales peptídicas modificadas, pero retienen la misma estructura química básica que la de un aminoácido de origen natural. Los miméticos de aminoácidos se refieren a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente a la estructura química general de un aminoácido, pero que funcionan en forma similar a la de un aminoácido natural. Los términos "aminoácido de origen no natural" y "aminoácido no natural" se refieren a los análogos de aminoácidos, a aminoácidos sintéticos y a miméticos de aminoácidos que no se encuentran en la naturaleza.

**[79]** Los aminoácidos pueden designarse en este documento por sus símbolos de tres letras comúnmente conocidos, o por los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica de la IUPAC-IUB. Asimismo, los nucleótidos pueden designarse por sus códigos de una sola letra comúnmente aceptados.

**[80]** Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se utilizan indistintamente en este documento para referirse a un polímero de residuos de aminoácidos, en donde el polímero, en las modalidades, puede estar conjugado a una fracción que no consiste en aminoácidos. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos en los cuales uno o más residuos de

aminoácidos son un mimético químico artificial de un aminoácido que se presenta en la naturaleza correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos que se presentan en la naturaleza y a polímeros de aminoácidos que no se presentan en la naturaleza. Una "proteína de fusión" se refiere a una proteína quimérica que codifica dos o más secuencias de proteínas separadas, que se expresan de manera recombinante como una sola fracción.

**[81]** El término "fusión" o "quimera", y variaciones gramaticales del mismo, cuando se utiliza en referencia a una secuencia, significa que la secuencia contiene una o más porciones que se basan, derivan, obtienen o aíslan a partir de dos o más proteínas diferentes. Es decir, por ejemplo, una porción de la secuencia puede basarse en o ser de una proteína particular, y otra porción de la secuencia puede basarse en o ser de una proteína particular diferente. De este modo, un polipéptido de fusión o quimérico es una molécula en la cual diferentes porciones del polipéptido son de orígenes proteicos diferentes.

**[82]** En cuanto a las secuencias de aminoácidos, un experto reconocerá que las sustituciones, eliminaciones o adiciones individuales, a una secuencia de ácido nucleico, peptídica, polipeptídica o de proteína, que altera, adiciona o elimina un solo aminoácido o un pequeño porcentaje de aminoácidos en la secuencia codificada, es una "variante conservativamente modificada", donde la alteración resulta en la sustitución de un aminoácido por un aminoácido químicamente similar. Las tablas de sustituciones conservativas, que proveen aminoácidos funcionalmente similares, se conocen ampliamente en la materia. Estas variantes conservativamente modificadas son adicionales y no excluyen las variantes polimórficas, los homólogos interespecies y los alelos de la divulgación.

**[83]** Los siguientes ocho grupos contienen, cada uno, aminoácidos que son sustituciones conservativas de uno por otro:

- 1) Alanina (A), Glicina (G);
- 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E);

- 3) Asparagina (N), Glutamina (Q);
- 4) Arginina (R), Lisina (K);
- 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V);
- 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W);
- 7) Serina (S), Treonina (T); y
- 8) Cisteína (C), Metionina (M)

(ver, por ejemplo, Creighton, Proteins (1984)).

**[84]** El "porcentaje de identidad de secuencias" se determina al comparar dos secuencias óptimamente alineadas a través de una ventana de comparación, en donde la porción de la secuencia polinucleotídica o polipeptídica, en la ventana de comparación, puede comprender adiciones o eliminaciones (es decir, huecos) en comparación con la secuencia de referencia (la cual no comprende adiciones ni eliminaciones), para una alineación óptima de las dos secuencias. El porcentaje se calcula al determinar el número de posiciones en las cuales se presenta la base de ácido nucleico o el residuo de aminoácido idéntico en ambas secuencias, para obtener el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes entre el número total de posiciones en la ventana de comparación, y multiplicando el resultado por 100 para obtener el porcentaje de identidad de secuencias.

**[85]** Los términos "idéntico" o "identidad" porcentual, en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias polipeptídicas, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son las mismas o tienen un porcentaje especificado de residuos de aminoácidos o nucleótidos que son los mismos (es decir, aproximadamente 60% de identidad, de preferencia 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o mayor identidad a lo largo de una región especificada, cuando se comparan y alinean para obtener la máxima correspondencia en una ventana de comparación o región designada), al medirse utilizando los algoritmos de comparación de secuencias BLAST o BLAST 2.0 con los

parámetros por defecto descritos a continuación, o por alineación manual e inspección visual (ver, por ejemplo, el sitio web del NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> o similares). Se afirma entonces que estas secuencias son "sustancialmente idénticas". Esta definición también se refiere, o puede aplicarse, al cumplimiento de una secuencia de prueba. La definición también incluye las secuencias que tienen eliminaciones y/o adiciones, así como las que tienen sustituciones. Como se describe a continuación, los algoritmos preferidos pueden dar cuenta de huecos y similares. De preferencia, existe identidad a lo largo de una región que es de por lo menos aproximadamente 25 aminoácidos o nucleótidos de longitud o, con mayor preferencia, a lo largo de una región que es de 50 a 100 aminoácidos o nucleótidos de longitud.

**[86]** Una "posición" de aminoácido o de base nucleotídica se denota por un número que identifica secuencialmente a cada aminoácido (o base nucleotídica) en la secuencia de referencia, en función de su posición relativa al extremo N terminal (o extremo 5'). Debido a las eliminaciones, inserciones, truncamientos, fusiones y similares, que deben tenerse en cuenta al determinar una alineación óptima, en general el número de residuo de aminoácido en una secuencia de prueba, determinado simplemente al contar desde el extremo N terminal, no será necesariamente el mismo que el número de su posición correspondiente en la secuencia de referencia. Por ejemplo, en caso de que una variante tenga una eliminación respecto a una secuencia de referencia alineada, no habrá ningún aminoácido en la variante que corresponda a una posición en la secuencia de referencia en el sitio de la eliminación. En casos donde hay una inserción en una secuencia de referencia alineada, esa inserción no corresponderá a una posición de aminoácido numerada en la secuencia de referencia. En el caso de truncamientos o fusiones, puede haber tramos de aminoácidos en la secuencia de referencia o en la alineada que no correspondan a ningún aminoácido de la secuencia correspondiente.

**[87]** Los términos "numerado con referencia a" o "correspondiente a", cuando se utilizan en el contexto de la numeración de una secuencia determinada de aminoácidos o de

polinucleótidos, se refieren a la numeración de los residuos de una secuencia de referencia especificada cuando la secuencia determinada de aminoácidos o de polinucleótidos se compara con la secuencia de referencia.

**[88]** El término "anticuerpo" se refiere a un polipéptido codificado por un gen de inmunoglobulina o fragmentos funcionales del mismo, que se une y reconoce específicamente un antígeno. Los genes de inmunoglobulinas reconocidos incluyen los genes de regiones constantes kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como los innumerables genes de regiones variables de inmunoglobulinas. Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulinas, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente.

**[89]** En el término "sales farmacéuticamente aceptables" se pretende incluir las sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares encontrados en los compuestos descritos en este documento. Cuando los compuestos de la presente divulgación contienen funcionalidades relativamente ácidas, pueden obtenerse sales de adición de bases al poner en contacto la forma neutra de estos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, en forma ya sea del compuesto de base puro o del compuesto de base disuelto en un solvente inerte adecuado, o por el tratamiento con una resina de intercambio iónico. Los ejemplos no limitantes de sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables incluyen una sal de sodio, potasio, calcio, amonio, amino orgánico o magnesio, o una sal similar. En algunas modalidades, una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable es un compuesto que comprende contraiones para el conjugado. En algunas modalidades, un contraión para el conjugado es un catión, tal como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  o  $\text{NH}_4^+$ . Cuando los compuestos de la presente divulgación contienen funcionalidades relativamente alcalinas, pueden obtenerse sales de adición de ácidos al poner en contacto la forma neutra de estos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado,

en forma ya sea del compuesto de ácido puro o del compuesto de ácido disuelto en un solvente inerte adecuado, o por el tratamiento con una resina de intercambio iónico. Los ejemplos de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos, como los ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, carbónico monoácido, fosfórico, fosfórico monoácido, fosfórico diácido, sulfúrico, sulfúrico monoácido, yodhídrico o fosfórico y similares, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos, como el acético, propiónico, isobutírico, maleico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, oxálico, metanosulfónico y similares. También se incluyen sales de aminoácidos tales como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos como los ácidos glucurónico o galacturónico y similares (ver, por ejemplo, Berge *et al*, "Pharmaceutical Salts", *Journal of Pharmaceutical Science*, 1977, 66:1-19). Ciertos compuestos específicos de la presente descripción contienen funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan a sales de adición de bases o ácidos. En algunas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de trifluoroacetato derivada por el contacto del ácido trifluoroacético, un ácido con un punto de ebullición relativamente bajo (72.4 °C), con la forma de base neutra del compuesto farmacéuticamente activo.

**[90]** De este modo, los compuestos de la presente divulgación pueden existir como sales, tal como con ácidos farmacéuticamente aceptables. La presente divulgación incluye estas sales. Los ejemplos no limitantes de estas sales incluyen clorhidratos, bromhidratos, fosfatos, sulfatos, metanosulfonatos, nitratos, maleatos, acetatos, citratos, fumaratos, propionatos, tartratos (por ejemplo, (+)-tartratos, (-)-tartratos, o mezclas de los mismos, incluyendo mezclas racémicas), succinatos, benzoatos, y sales con aminoácidos tales como el ácido glutámico, y sales de amonio cuaternario (por ejemplo, yoduro de metilo, yoduro de etilo y similares). Estas sales pueden prepararse por métodos conocidos por los expertos en la materia.

**[91]** Las formas neutras de los compuestos de preferencia se regeneran al poner en contacto la sal con una base o ácido, y al aislar el compuesto de origen en la manera convencional. La forma de origen del compuesto puede diferir de las diversas formas salinas en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en solventes polares.

5           **[92]** Además de formas salinas, la presente divulgación provee compuestos que se encuentran en forma de profármaco. Los profármacos de los compuestos descritos en este documento son aquellos compuestos que experimentan fácilmente cambios químicos bajo condiciones fisiológicas, para proveer los compuestos de la presente divulgación. Los profármacos de los compuestos descritos en este documento pueden convertirse *in vivo* después  
10 de su administración. Adicionalmente, los profármacos pueden convertirse a los compuestos de la presente divulgación por métodos químicos o bioquímicos en un entorno *ex vivo* tal como, por ejemplo, al entrar en contacto con una enzima o reactivo químico adecuado.

**[93]** Ciertos compuestos de la presente descripción pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas  
15 solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas, y se abarcan dentro del alcance de la presente divulgación. Ciertos compuestos de la presente divulgación pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente divulgación, y se tiene la intención de que estén dentro del alcance de la presente divulgación.

20           **[94]** "Excipiente farmacéuticamente aceptable" y "portador farmacéuticamente aceptable" se refieren a una sustancia que ayuda en la administración de un agente activo y la absorción por un sujeto, y que puede incluirse en las composiciones de la presente divulgación sin ocasionar un efecto toxicológico adverso significativo en el paciente. Los ejemplos no  
25 limitantes de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen agua, NaCl, soluciones salinas normales, lactato de Ringer, sacarosa normal, glucosa normal, aglomerantes, rellenos,

disgregantes, lubricantes, recubrimientos, edulcorantes, sabores, soluciones salinas (tales como solución de Ringer), alcoholes, aceites, gelatinas, carbohidratos tales como lactosa, amilosa o almidón, ésteres de ácidos grasos, hidroximetilcelulosa, polivinil pirrolidina, colores y similares. Estas preparaciones pueden esterilizarse y, si se desea, mezclarse con agentes auxiliares tales como lubricantes, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, sales para influir en la presión osmótica, reguladores, sustancias colorantes y/o aromáticas y similares, que no reaccionan de manera perjudicial con los compuestos de la divulgación. Un experto en la materia reconocerá que otros excipientes farmacéuticos son útiles en la presente divulgación.

**[95]** En el término "preparación" se tiene la intención de incluir la formulación del compuesto activo con material encapsulante como portador, lo que provee una cápsula en la que el componente activo, con o sin otros portadores, se rodea por un portador, con el cual, de este modo, está en asociación. De igual modo, se incluyen grageas y losanges. Pueden utilizarse tabletas, polvos, cápsulas, píldoras, grageas y losanges como formas sólidas de dosificación, adecuadas para la administración oral.

**[96]** Tal como se utiliza en este documento, el término "aproximadamente" significa un intervalo de valores que incluye el valor especificado, que un experto en la materia consideraría razonablemente similar al valor especificado. En las modalidades, aproximadamente significa dentro de una desviación estándar, utilizando mediciones generalmente aceptables en la materia. En las modalidades, aproximadamente significa un intervalo que se extiende hasta +/- 10% del valor especificado. En las modalidades, aproximadamente incluye el valor especificado.

**[97]** Una "cantidad sinérgica", tal como se utiliza en este documento, se refiere a la suma de una primera cantidad (por ejemplo, una cantidad de un compuesto provisto en este documento) y una segunda cantidad (por ejemplo, un agente terapéutico), que resulta en un efecto sinérgico (es decir, un efecto mayor que un efecto aditivo). Por lo tanto, los términos "sinergia", "sinergismo", "sinérgico", "cantidad sinérgica combinada" y "efecto terapéutico

sinérgico", que se utilizan indistintamente en este documento, se refieren a un efecto medido del compuesto administrado en combinación, donde el efecto medido es mayor que la suma de los efectos individuales de cada uno de los compuestos provistos en este documento, administrados solos como agente único.

5           **[98]**   En las modalidades, una cantidad sinérgica puede ser aproximadamente el 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7.0, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8.0, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 10   9.0, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10.0, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99% de la cantidad del compuesto provisto en este documento, cuando se utiliza de manera separada 15 del agente terapéutico. En las modalidades, una cantidad sinérgica puede ser aproximadamente el 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7.0, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8.0, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 20   8.8, 8.9, 9.0, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10.0, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99% de la cantidad del agente terapéutico, cuando se utiliza de manera separada del 25 compuesto provisto en este documento.

**[99]** En la presente divulgación, los términos "comprende", "que comprende", "que contiene" y "que tiene", y similares, pueden tener el significado que se les atribuye en la legislación sobre patentes de E.U., y pueden significar "incluye", "incluyendo" y similares. "Que consiste esencialmente en" o "consiste esencialmente", asimismo, tienen el significado atribuido en la ley de patentes de E.U., y los términos son abiertos, lo que permite la presencia de más de lo que se indica, siempre y cuando las características básicas o novedosas de lo que se indica no cambien por la presencia de más de lo que se indica, pero excluyen las modalidades de la técnica anterior.

### **EJEMPLO 1**

#### **Introducción**

**[100]** Existen múltiples péptidos conocidos que se unen a PS de superficie celular, tales como LIKKPF (SEQ ID NO: 1), PGDLSR (SEQ ID NO: 2) (ref. 9), CLIKKPF (SEQ ID NO: 3), CPGDLSR (SEQ ID NO: 4) (ref. 10), FNFRLKAGAKIRFG (SEQ ID NO: 5) (ref. 11), FXFXLKXXXKXR (SEQ ID NO: 6) (ref. 12), TLVSSL (SEQ ID NO: 7) (ref. 13), CLSYPSYC (SEQ ID NO: 8) (ref. 14) y Cyclo(RKKWFGC) (SEQ ID NO: 15) (ref. 19). Sin embargo, la afinidad de estos péptidos por PS no es suficientemente alta como para convertirlos en herramientas ideales de suministro de objetivos por sí mismos.

**[101]** Se considera que la producción de versiones multivalentes de los mismos podría resolver el problema de la baja afinidad y, aún así, deberían ser suficientemente pequeños como para penetrar en los tumores sólidos.

**[102]** La previsión fue acertada en el sentido de que el monómero o dímero de los péptidos de unión a fosfoserina, conjugados con un agonista de TLR, no mostraron actividad antitumoral alguna, mientras que un tetrámero de TLVSSL (SEQ ID NO: 7) ha demostrado potentes actividades antitumorales en ratones, mientras que carecía de actividades adversas sistémicas evidentes.

## Materiales y métodos

### Modelo de ratones singénicos, TSA005 (Figura 1)

**[103]** Todos los estudios en animales se condujeron de acuerdo con los protocolos aprobados por el comité institucional del cuidado animal de CanBas Co., Ltd. Ratones BALB/c hembras de seis semanas de edad (The Jackson Laboratories Japan, Inc., Kanagawa, Japón) se inocularon por vía subcutánea en un flanco con una suspensión de células CT26WT ( $5 \times 10^5$  células). Diez días después, los ratones se distribuyeron en 5 grupos (6 a 8 ratones/grupo) y los tratamientos se iniciaron en el día 1.

**[104]** El primer ciclo de los tratamientos fue del día 1 al 5, y el segundo ciclo fue del día 10 al 14, de la siguiente manera.

Cisplatino: inyección intravenosa (i.v.) de cisplatino 4 mg/kg, y glucosa al 5%, los días 1 y 10. Solución salina i.v. en los días 2, 3, 11 y 12.

Cisplatino + CBP501: cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg i.v., en el día 1 y 10. Solución salina i.v. en los días 2, 3, 11 y 12.

Cisplatino + CBP501 + TSA005: cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg i.v., en el día 1 y 10. TSA005 100 µg i.v. en los días 2, 3, 11 y 12.

Cisplatino + CBP501 + anticuerpo anti-CTLA-4: anticuerpo anti-CTLA4 200 µg inyección intraperitoneal (i.p.) en los días 1 y 5. cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg i.v., en el día 2.

Cisplatino + CBP501 + anticuerpo anti-CTLA-4 + TSA005: anticuerpo anti-CTLA4 200 µg i.p. en los días 1 y 5. cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg i.v., en el día 2. TSA005 100 µg i.v. dos veces el día 3 y una vez el día 4.

**[105]** Se administró difenhidramina 10 mg/kg i.p. 15 min antes del tratamiento con CBP501 o glucosa al 5%. El tamaño del tumor se midió tres veces por semana con un par de calibradores, para calcular el volumen tumoral al utilizar la siguiente fórmula: volumen ( $\text{mm}^3$ ) =  $[(\text{anchura})^2 (\text{mm}) \times \text{longitud} (\text{mm})] / 2$ .

**[106]** La **Figura 1** muestra curvas de crecimiento del tumor subcutáneo singénico, la línea celular de cáncer de colon CT26, de ratones BALB/c tratados con cisplatino, CBP501, anticuerpo anti-CTLA-4, TSA005 y/o vehículo.

**[107]** Células de cáncer de colon, de la línea celular CT26, se inocularon por vía subcutánea en ratones BALB/c a  $5 \times 10^5$  células/ratón. El tratamiento se inició el día 1, cuando los tamaños tumorales de 6 a 8 ratones por grupo de prueba alcanzaron un tamaño promedio de aproximadamente 200 mm<sup>3</sup>. A continuación se detalla un ciclo del programa de tratamiento, dosis y ruta de tratamiento.

Grupos de tratamiento y programa

|    |          |                                                                                                                                                                                          |
|----|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10 | Grupo 1: | Día 1 y 10: cisplatino 4 mg/kg y glucosa al 5%, intravenoso (i.v.)<br>Día 2, 3, 11 y 12: solución salina, i.v.                                                                           |
|    | Grupo 2: | Día 1 y 10: cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg, i.v.<br>Día 2, 3, 11 y 12: solución salina, i.v.                                                                                        |
|    | Grupo 3: | Día 1 y 10: cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg, i.v.<br>Día 2, 3, 11 y 12: TSA005 100 µg, i.v.                                                                                          |
| 15 | Grupo 4: | Día 1: anti-CTLA-4, inyección intraperitoneal (i.p.)<br>Día 2: cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg, i.v.<br>Día 5: anti-CTLA-4, i.p.                                                     |
| 20 | Grupo 5: | Día 1: anti-CTLA-4, i.p.<br>Día 2: cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg, i.v.<br>Día 3: TSA005 100 µg, dos veces, i.v.<br>Día 4: TSA005 100 µg, una vez, i.v.<br>Día 5: anti-CTLA-4, i.p. |

*Péptidos*

**[108]** La **Tabla 1** a continuación muestra la estructura de los péptidos de unión a PS o

de control sin sentido, conjugados con **agonista de TLR** o con molécula inmunofluorescente. En esta tabla, una letra mayúscula indica un L-aminoácido, y una letra no mayúscula indica un D-aminoácido.

**Tabla 1**

| Nombre clave: Estructura                                                                                 | Atributo                                            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| TSA001: <b>CL264</b> -rrrlssvlt                                                                          | mono-retroinverso de TLVSSL (SEQ ID NO: 7)          |
| TSA002: TLVSSLrrrG-EDA- <b>CL264</b>                                                                     | mono-TLVSSL (SEQ ID NO: 7)                          |
| TSA003: <b>CL264</b> -rrre(lssvlt-NH <sub>2</sub> )lssvlt-NH <sub>2</sub>                                | di-retroinverso de TLVSSL (SEQ ID NO: 7)            |
| TSA004: TLVSSLK(TLVSSL)rrrG-EDA- <b>CL264</b>                                                            | di-TLVSSL (SEQ ID NO: 7)                            |
| TSA005: (TLVSSLr) <sub>4</sub> -K <sub>2</sub> -K-Cys(MI- <b>CL264</b> )-NH <sub>2</sub>                 | tetra-TLVSSL (SEQ ID NO: 7)                         |
| TSA006: (GEGKGGr) <sub>4</sub> -K <sub>2</sub> -K-Cys(MI- <b>CL264</b> )-NH <sub>2</sub>                 | tetra-GEGKGGr (SEQ ID NO: 9)                        |
| TSA007: <b>CL264</b> -CLSYPPSYC                                                                          | mono-CLSYPPSYC (SEQ ID NO: 8)                       |
| TSA008: FITC reemplaza <b>CL264</b> en tetra-TLVSSL                                                      | FITC reemplaza CL264 en tetra-TLVSSL (SEQ ID NO: 7) |
| TSA009: (TLVSSLr) <sub>8</sub> -K <sub>4</sub> -K <sub>2</sub> -K-Cys(MI- <b>CL264</b> )-NH <sub>2</sub> | octa-TLVSSL (SEQ ID NO: 7)                          |

5

*Modelo de ratones singénicos – TSA005 en comparación con TSA009 (Figura 2)*

**[109]** Todos los estudios en animales se condujeron de acuerdo con los protocolos aprobados por el comité institucional del cuidado animal de CanBas Co., Ltd. Ratones BALB/c hembras de seis semanas de edad (The Jackson Laboratories Japan, Inc., Kanagawa, Japón) se inocularon por vía subcutánea en un flanco con una suspensión de células CT26WT (5 x 10<sup>5</sup> células). Diez días después, los ratones se distribuyeron en 3 grupos (6 ratones/grupo) y los tratamientos se iniciaron en el día 1.

10

**[110]** Cisplatino + CBP501 + anticuerpo anti-CTLA-4: anticuerpo anti-CTLA4 200 µg inyección intraperitoneal (i.p.) en los días 3 y 5. cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg i.v., en el día 2. Solución salina i.v. dos veces el día 3 y una vez el día 4.

15

**[111]** Cisplatino + CBP501 + anticuerpo anti-CTLA-4 + TSA005: anticuerpo anti-CTLA4

200 µg i.p. en los días 3 y 5. cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg i.v., en el día 2. TSA005 100 µg i.v. dos veces el día 3 y una vez el día 4.

**[112]** Cisplatino + CBP501 + anticuerpo anti-CTLA-4 + TSA009: anticuerpo anti-CTLA4 200 µg i.p. en los días 3 y 5. cisplatino 4 mg/kg y CBP501 6 mg/kg i.v., en el día 2. TSA005 100 µg i.v. dos veces el día 3 y una vez el día 4.

**[113]** Se administró difenhidramina 10 mg/kg i.p. 15 min antes del tratamiento con CBP501 o glucosa al 5%. El tamaño del tumor se midió tres veces por semana con un par de calibradores, para calcular el volumen tumoral al utilizar la siguiente fórmula: volumen (mm<sup>3</sup>) = [(anchura)<sup>2</sup> (mm) x longitud (mm)] / 2.

**Análisis por citometría de flujo de la versión Cy5.5 de TSA005 y 006 teñida con FITC-Anexina V (AnxV). (Figura 3)**

**[114]** Cy5.5 (Cianina-5.5) es un compuesto fluorescente con un pico de excitación a 683 nm y un pico de emisión a 703 nm. Cy5.5 (Cianina-5.5) es espectralmente similar a TF6WS (Tide Fluor 6WS), Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700 y Rhodamine 800.

**[115]** Las versiones de Cy5.5 de TSA005 (TSA012) y TSA006 (TSA013) son dendrímeros cuyo CL264 en (TLVSSLr)<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>-K-Cys(MI-CL264)-NH<sub>2</sub> y (GEGKGGr)<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>-K-Cys(MI-CL264)-NH<sub>2</sub> se sustituyó por Cianina 5.5, respectivamente, y se sintetizaron en Peptide institute, Inc., Osaka, Japón. (MI: maleimida).

**[116]** Una línea de células T humanas, Jurkat clon E6-1 (ATCC, TIB-152), se tiñó conjuntamente con Vehículo, TSA012 o TSA013 con FITC-AnxV (BioLegend, CA, 640906, lote # B345098), y se analizó por citometría de flujo. A continuación se describe brevemente el procedimiento experimental.

**[117]** Para inducir un evento apoptótico, se adicionó camptotecina 5 µM (Sigma, MO, C-9111) a 8 x 10<sup>5</sup> células Jurkat clon E6-1 en un matraz T-75, y se incubaron por cuatro horas. Después de lavar las células con 10 ml de PBS (-) y regulador de unión a AnxV, una vez cada

uno,  $4 \times 10^5$  células se resuspendieron en 100  $\mu$ l de regulador de unión de AnxV en un tubo de 1.5 ml. Las células se incubaron con 5  $\mu$ l de FITC-AnxV diluido, TSA012 o TSA013 por 15 min a temperatura ambiente en oscuridad. Luego se adicionaron 10  $\mu$ l de yoduro de propidio a 20  $\mu$ g/ml (concentración final de 1.7  $\mu$ g/ml), y se incubó durante 2 min en hielo en oscuridad. Se adicionaron 300  $\mu$ l de regulador de unión de AnxV a cada tubo antes del análisis con un CytoFLEX (Beckman Coulter, IND). Los datos adquiridos se analizaron por el software FlowJo.

*Curvas de crecimiento tumoral de la línea celular de cáncer de colon de ratón CT-26 implantada por vía subcutánea en ratones BALB/c singénicos. (Figuras 4A a 4D)*

**[118]** Se implantaron  $5 \times 10^5$  células de la línea celular de cáncer de colon de ratones, CT-26WT, en ratones BALB/c por vía subcutánea, en el día -10 cuando los ratones tenían 6 semanas de edad. Seis ratones formaron un grupo para cada tratamiento, cuando el tamaño tumoral promedio era de 205 mm<sup>3</sup> (132 a 279 mm<sup>3</sup>). Los tratamientos se realizaron de la siguiente manera, cuando los ratones tenían 8 semanas de edad con un peso corporal de 19.5 a 24.5 g, y el tamaño tumoral se midió tres veces por semana.

**[119]** Esquema de dosificación ("ip": inyección intraperitoneal; "iv": inyección intravenosa):

Difenhidramina (ip): 10 mg/kg (15 min antes de cisplatino/CBP501 en el día 1)

Cisplatino (iv): 4 mg/kg (día 1)

CBP501 (iv): 6 mg/kg (día 1)

Anticuerpo anti-CTLA4 (ip) 200  $\mu$ g/ratón (día 2, 4)

TSA005, 006 en solución salina (iv): 100  $\mu$ g/ratón (día 2  $\times$  2, día 3  $\times$  1)

TSA015 en HEPES (iv): 100  $\mu$ g/ratón (día 2  $\times$  2, día 3  $\times$  1)

Vehículo: solución salina (iv): 100  $\mu$ l/ratón (día 2  $\times$  2, día 3  $\times$  1)

*Distribución de la versión Cy5.5 de TSA006 (TSA013) en el ratón BALB/c. (Figura 5)*

**[120]** A ratones BALB/c hembras, a las 7 semanas de edad, se les implantó CT-26WT

por vía subcutánea a  $5 \times 10^5$  células/ratón, y se dejó crecer el tumor hasta 114 a 190 mm<sup>3</sup> (tamaño promedio: 152 mm<sup>3</sup>). Después del siguiente tratamiento, cuando los ratones tenían 9 semanas de edad con un peso corporal de 23.0 a 24.0 g, se detectaron las luces emitidas por Cy5.5 mediante IVIS LuminaX5 (filtro: Ex:660, Em:710) en el día 4.

5           **[121]** Los tratamientos fueron los siguientes:

Difenhidramina (ip): 10 mg/kg (15 min antes de cisplatino/CBP501 en el día 1)

Cisplatino (iv): 4 mg/kg (en el día 1)

CBP501 (iv): 6 mg/kg (en el día 1)

TSA013 en solución salina (iv): 100 µg/ratón (en el día 3)

10           Resultados

**[122]** Como se muestra en la **Figura 1**, la combinación CBP501 + cisplatino suprimió el crecimiento tumoral subcutáneo mucho mejor que el cisplatino solo. La adición de TSA005 a la combinación suprimió aún más el crecimiento tumoral.

15           **[123]** La adición de uno de los inhibidores de puntos de control inmunitarios, el anticuerpo anti-CTLA4, suprimió el crecimiento tumoral durante más tiempo que la combinación CBP501 + cisplatino sola, aún cuando la combinación de tres fármacos con anti-CTLA4 se dosificó por sólo un ciclo de tratamiento, en comparación con los dos ciclos de tratamientos de la combinación de dos fármacos CBP501 + cisplatino.

20           **[124]** TSA005 intensificó la actividad antitumoral cuando se utilizó en combinación con el régimen de tratamiento ya sea de dos fármacos o de tres fármacos.

**[125]** Como se muestra en la **Figura 2**, la adición de TSA005, pero no de TSA009, suprimió el crecimiento tumoral subcutáneo de CT26 más que sólo CBP501 + cisplatino + anticuerpo anti-CTLA4, un modelo tumoral singénico.

**[126]** Estructura de TSA005: (TLVSSLr)4-K2-K-Cys(MI-CL264)-NH<sub>2</sub>.

25           **[127]** Estructura de TSA009: (TLVSSLr)8-K4-K2-K-Cys(MI-CL264)-NH<sub>2</sub>.

[128] Con respecto a la **Figura 2**, se observó un efecto perjudicial de TSA009 en comparación con la administración de CBP501 + cisplatino + anticuerpo anti-CTLA4, con o sin TSA005. Una hipótesis para este efecto observado de TSA009 podría ser que este conjugado actúa como si se suministrara sistemáticamente, pero no a las células apoptóticas y/o cancerosas.

[129] Como se muestra en la **Figura 3**, las células dobles positivas para AnxV y TSA012 o TSA013, en el cuadrante superior derecho, se incrementaron de 5.77 a 37.9 y de 11.5 a 39.6% con la versión Cy5.5 de TSA005 (TSA012) y la versión Cy5.5 de TSA006 (TSA013), respectivamente, por el tratamiento de camptotecina, que es un inductor de apoptosis conocido en células Jurkat. Es probable que las señales altamente dobles positivas provengan de células muertas dado que, como se muestra en los 6 paneles de la derecha, las señales altamente dobles positivas desaparecieron al seleccionar poblaciones de sólo células vivas. Aún así, las células dobles positivas para AnxV y TSA012 o TSA013 se incrementaron claramente con el tratamiento con camptotecina, por ejemplo, de 2.21 a 29% y de 5.1 a 31.3%, respectivamente. Estos datos, presentados en la **Figura 3**, sugirieron que TSA012 y TSA013 se unen a las células de unión a AnxV. Se sabía que estas células eran células apoptóticas o muertas.

[130] Los datos presentados en la **Figura 4A** muestran que el crecimiento tumoral de CT26 fue suprimido por el tratamiento con cisplatino, CBP501 y anti-CTLA-4, en comparación con el vehículo, con cada compuesto individual, o con cada combinación doble (datos no mostrados). La adición de TSA005 y TSA006 suprimió aún más el crecimiento tumoral. La adición de estos compuestos no cambió el peso corporal del ratón en mayor medida que la combinación de fármacos triple (datos no mostrados).

[131] Los datos presentados en las **Figuras 4B a 4D** muestran que, a diferencia de muchos citotóxicos, los agentes de acción inmunitaria suprimieron de manera variable el crecimiento tumoral, incluso con la misma condición de tratamiento. Los datos también indicaron

que los tumores más pequeños tendían a tener su crecimiento suprimido más que los tumores más grandes. Los datos concordaron con el mecanismo de acción inmunológico relacionado, esperado de TSA005 y TSA006.

**[132]** Los datos presentados en la **Figura 5** muestran que TSA013 se acumuló en los sitios tumorales implantados, donde se indujo apoptosis por el tratamiento con cisplatino y CBP501.

#### Exposición de argumentos

**[133]** Se ha demostrado que CBP501 podría incrementar el efecto de los agentes terapéuticos de platino en las células cancerosas (15, 16), e inducir la muerte celular inmunogénica (17). CBP501 también suprime la liberación de citocinas por los macrófagos, y reduce la acumulación de células troncales cancerosas (18). Como era de esperar, CBP501 + cisplatino suprimieron el crecimiento tumoral mejor que el cisplatino solo, y la adición de TSA005 redujo aún más el crecimiento del tumor.

**[134]** Del mismo modo, TSA005 redujo el crecimiento tumoral en mayor medida que la triple combinación farmacológica de CBP501 + cisplatino + anticuerpo anti-CTLA-4.

**[135]** Los datos sugirieron que TSA005 actúa a través de un mecanismo diferente a los mecanismos del cisplatino, CBP501 y anti-CTLA-4. Dado que TSA005 incluye porciones de unión a fosfatidilserina y de agonistas de receptores tipo Toll, se espera que sea fagocitado por las células fagocitarias en conjunto con las células apoptóticas, y que la porción de agonistas de receptores tipo Toll fagocitada cambie la forma de la presentación de antígenos, por las células fagocitarias, de negativa a positiva.

#### **REFERENCIAS**

1. J. A. Marin-Acevedo *et al.*, Next generation of immune checkpoint inhibitors and beyond. J. Hematol. Oncol., 2021
2. A. D. Waldman *et al.*, A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science

to clinical practice. *Nat. Rev. Imm.*, 2020

3. S. Pahlavanneshan *et al.*, Toll-Like Receptor-Based Strategies for Cancer Immunotherapy. *J. Imm. Res.*, 2021

4. A. Keshavarz1 *et al.*, Toll-like receptors (TLRs) in cancer; with an extensive focus on TLR agonists and antagonists. *IUBMB Life*. 2021

5. A. J. R. Gadd *et al.*, Targeted Activation of Toll-Like Receptors: Conjugation of a Toll-Like Receptor 7 Agonist to a Monoclonal Antibody Maintains Antigen Binding and Specificity. *Bioconjug Chem*, 2015

6. S. E. Ackerman *et al.*, Immune-stimulating antibody conjugates elicit robust myeloid activation and durable antitumor immunity. *Nat. Can.*, 2020

7. G. M. Thurber *et al.*, Antibody tumor penetration: Transport opposed by systemic and antigen-mediated clearance. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008

8. W. Chang *et al.*, Targeting phosphatidylserine for Cancer therapy: prospects and challenges. *Theranostics*, 2020

9. C. Burtea *et al.*, Peptidic Targeting of Phosphatidylserine for the MRI Detection of Apoptosis in Atherosclerotic Plaques. *Mol. Pharm.*, 2009

10. J. Kaptý *et al.*, Evaluation of Phosphatidylserine-Binding Peptides Targeting Apoptotic Cells. *J. Bio. Scr.*, 2012

11. A. Perreault *et al.*, Targeting Phosphatidylserine with a <sup>64</sup>Cu-Labeled Peptide for Molecular Imaging of Apoptosis. *Mol. Pharm.*, 2016

12. K. Igarashi *et al.*, A Novel Phosphatidylserine- binding Peptide Motif Defined by an Anti-idiotypic Monoclonal Antibody. *J.B.C.*, 1995

13. C. Laumonier *et al.*, A New Peptidic Vector for Molecular Imaging of Apoptosis, Identified by Phage Display Technology. *J. Bio. Scr.*, 2006

14. N. Thapa *et al.*, Discovery of a phosphatidylserine-recognizing peptide and its utility

in molecular imaging of tumour apoptosis. J. Cell. Mol. Med., 2008

15. S. Sha *et al.*, Cell cycle phenotype-based optimization of G2 abrogating peptides yields CBP501 with a unique mechanism of action at the G2 checkpoint. Mol. Cancer Ther., 2007

16. N. Mine *et al.*, CBP501-calmodulin binding contributes to sensitizing tumor cells to CDDP and BLM. Mol. Cancer Ther., 2011

17. K. Sakakibara *et al.*, CBP501 induces immunogenic tumor cell death and CD8 T cell infiltration into tumors in combination with platinum, and increases the efficacy of immune checkpoint inhibitors against tumors in mice. Oncotarget, 2017

18. N. Mine *et al.*, CBP501 suppresses macrophage induced cancer stem cell like features and metastases. Oncotarget, 2017

19. Barth *et al.*, A fluorogenic cyclic peptide for imaging and quantification of drug-induced apoptosis. Nature Communications vol 11: 4027, 2020

**[136]** La cita bibliográfica de cualquier patente, solicitud de patente, publicación, o de cualquier otro documento, no constituye la admisión de que cualquiera de los precedentes sea el estado de la técnica pertinente, ni constituye admisión alguna en cuanto al contenido o fecha de estas publicaciones o documentos.

**[137]** A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos, utilizados en este documento, tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la materia a la cual pertenece esta invención. Aunque pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en este documento, en la práctica o prueba de la presente invención, en este documento se describen los métodos y materiales adecuados.

**[138]** Todos los atributos dados a conocer en este documento pueden conjuntarse en cualquier combinación. Cada atributo dado a conocer en la especificación puede reemplazarse por un atributo alternativo, que sirva para un mismo, equivalente, o similar propósito. De esta manera, a menos que se indique expresamente de otro modo, los atributos dados a conocer (por

ejemplo, anticuerpos) son un ejemplo de un género de atributos equivalentes o similares.

**[139]** Como se utilizan en este documento, todos los valores numéricos o intervalos numéricos incluyen números enteros dentro de estos intervalos, y las fracciones de los valores o de los números enteros dentro de los intervalos, a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. Además, cuando en este documento se describe un listado de valores (por ejemplo, aproximadamente 50%, 60%, 70%, 80%, 85% u 86%), el listado incluye todos los valores intermedios y fraccionarios de los mismos (por ejemplo, 54%, 85.4%). De esta manera, para ilustrar, la referencia a 80% o más de identidad incluye 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% etc., así como 81.1%, 81.2%, 81.3%, 81.4%, 81.5%, etc., 82.1%, 82.2%, 82.3%, 82.4%, 82.5%, etc., y así sucesivamente.

**[140]** La referencia a un número entero con más (mayor) o menos de, incluye cualquier número mayor o menor al número de referencia, respectivamente. De esta manera, por ejemplo, una referencia a menos de 100 incluye 99, 98, 97, etc., hasta llegar al número uno (1); y menos de 10, incluye 9, 8, 7, etc., hasta llegar al número uno (1).

**[141]** Como se utilizan en este documento, todos los valores o intervalos numéricos incluyen fracciones de los valores y números enteros dentro de estos intervalos, y fracciones de los números enteros dentro de estos intervalos, a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. De este modo, para ilustrar, la referencia a un intervalo numérico, tal como 1 a 10, incluye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, así como 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, etc., y así sucesivamente. La referencia a un intervalo de 1 a 50, por lo tanto, incluye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, etc., hasta e incluyendo 50, así como 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, etc., 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, etc., y así sucesivamente.

**[142]** La referencia a una serie de intervalos incluye intervalos que combinan los valores de los límites de diferentes intervalos dentro de la serie. De este modo, para ilustrar, la referencia a una serie de intervalos, por ejemplo, de 1 a 10, 10 a 20, 20 a 30, 30 a 40, 40 a 50, 50 a 60, 60

a 75, 75 a 100, 100 a 150, 150 a 200, 200 a 250, 250 a 300, 300 a 400, 400 a 500, 500 a 750, 750 a 1,000, 1,000 a 1,500, 1,500 a 2,000, 2,000 a 2,500, 2,500 a 3,000, 3,000 a 3,500, 3,500 a 4,000, 4,000 a 4,500, 4,500 a 5,000, 5,500 a 6,000, 6,000 a 7,000, 7,000 a 8,000 o 8,000 a 9,000, incluye intervalos de 10 a 50, 50 a 100, 100 a 1,000, 1,000 a 3,000, 2,000 a 4,000, etc.

5           **[143]** Pueden hacerse modificaciones a lo precedente, sin apartarse de los aspectos básicos de la tecnología. Aunque la tecnología se ha descrito con todo detalle con referencia a una o más modalidades específicas, los expertos en la materia reconocerán que pueden hacerse cambios en las modalidades dadas a conocer específicamente en esta solicitud, y que estas modificaciones y mejoras estén dentro del alcance y espíritu de la tecnología.

10           **[144]** La invención se da a conocer en general en este documento al utilizar lenguaje afirmativo para describir las numerosas modalidades y aspectos. La invención también incluye específicamente modalidades en las cuales se excluye materia objeto particular, por completo o en parte, tales como sustancias o materiales, etapas metodológicas y condiciones, protocolos o procedimientos. Por ejemplo, en ciertas modalidades o aspectos de la invención, se excluyen  
15 materiales y/o etapas metodológicas. De este modo, aún cuando la invención en general no se expresa en este documento en lo que respecta a lo que la invención no incluye, los aspectos que no se excluyen expresamente en la invención no obstante se dan a conocer en la presente.

**[145]** Algunas modalidades de la tecnología descrita en este documento pueden practicarse adecuadamente en ausencia de un elemento no dado a conocer específicamente en  
20 la presente. Por consiguiente, en algunas modalidades, los términos "que comprende" o "comprende" pueden reemplazarse con "que consiste esencialmente en" o "que consiste en", o con variaciones gramaticales de los mismos. Los términos "un" o "una" pueden referirse a uno o a una pluralidad de los elementos que modifican (por ejemplo, "un reactivo" puede significar uno o más reactivos), a menos que sea claro contextualmente que se describe uno de los elementos,  
25 o más de uno de los elementos. El término "aproximadamente", tal como se utiliza en este

documento, se refiere a un valor dentro del 10% del parámetro subyacente (es decir, más o menos 10%), y el uso del término "aproximadamente", al principio de una cadena de valores, modifica cada uno de los valores (es decir, "aproximadamente 1, 2 y 3" se refiere a aproximadamente 1, a aproximadamente 2 y a aproximadamente 3). Por ejemplo, un peso de "aproximadamente 100 gramos" puede incluir pesos de entre 90 gramos y 110 gramos. El término "sustancialmente", tal como se utiliza en este documento, se refiere a un modificador de valores que significa "por lo menos 95%", "por lo menos 96%", "por lo menos 97%", "por lo menos 98%" o "por lo menos 99%", y puede incluir 100%. Por ejemplo, una composición que es sustancialmente libre de X, puede incluir menos de 5%, menos de 4%, menos de 3%, menos de 2%, o menos de 1% de X, y/o X puede estar ausente o ser indetectable en la composición.