

CONJUGADOS FOSFATIDIL-TIO DIRIGIDOS A TELÓMEROS

5

REFERENCIA CRUZADA A LAS SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica la prioridad según 35 U.S.C § 119, en base a la
10 solicitud provisional de los Estados Unidos núm. 63/546,242, presentada
el 29 de octubre de 2023, y titulada “Telomere-Targeting Phosphatidyl-
Thio Conjugates”

15

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente descripción se refiere a los campos de la medicina,
farmacología, biología molecular y oncología. Más particularmente, la
20 descripción se refiere a conjugados fosfatidil-tio dirigidos a telómeros con
actividad anticancerígena.

25

ANTECEDENTES DE LA DESCRIPCIÓN

Las inmunoterapias han revolucionado el tratamiento de muchos cánceres
en el campo de la inmuno-oncología (Brahmer y otros, 2012; Hodi y otros,
30 2010; Ribas y Wolchok, 2018; Topalian y otros, 2012). Las inmunoterapias
más comúnmente usadas son los bloqueos de puntos de regulación PD-
L1/PD-1 que han sido aprobados por la FDA para cánceres avanzados
tales como melanoma, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama,
cáncer de cuello uterino, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello,
linfoma de Hodgkin, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de
células renales, cáncer de estómago, cáncer rectal y cualquier tumor
sólido que no sea capaz de reparar errores en su ADN que ocurren

durante la replicación (Garon y otros, 2015; Ribas y otros, 2016; Rizvi y otros, 2015b; Socinski y otros, 2018; Instituto Nacional del Cáncer). A pesar del éxito de las inmunoterapias, muchos pacientes no responden bien a estas terapias debido al microambiente tumoral inmunosupresor, la inmunogenicidad tumoral y el surgimiento de resistencia primaria y adaptativa (Chen y Han, 2015; Gide y otros, 2018). Aunque estudios recientes muestran que la abundancia de mutaciones tumorales y neoantígenos dictan parcialmente las respuestas de los pacientes con cáncer al bloqueo de puntos de regulación, todavía hay un número considerable de pacientes con mutaciones y neoantígenos altos que no responden bien (Le y otros, 2017; Mandal y otros, 2019; Rizvi y otros, 2015a), lo que sugiere que los neoantígenos no son suficientes para provocar respuestas inmunitarias antitumorales. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de identificar otros factores para mejorar las respuestas inmunitarias y desarrollar nuevos enfoques para mejorar la supervivencia general del paciente.

La generación de respuestas inmunitarias adaptativas antitumorales eficaces requiere la presentación de antígenos tumorales por células presentadoras de antígenos, cuya activación depende en gran medida de una detección innata adecuada. La detección innata a menudo se proporciona por señales de peligro tales como la proteína de caja 1 de grupo de alta movilidad, ATP extracelular y ADN de tumores liberados de células tumorales estresadas (Kroemer y otros, 2013; Pitt y otros, 2017). Estudios recientes destacan la importancia de la detección de ADN citosólico en terapias de radiación y daño al ADN (Deng y otros, 2014; Sen y otros, 2019). La presencia de ADN en el citoplasma, por ejemplo, en forma de micronúcleos (orgánulos que contienen ADN pequeños) que pierden membranas de envoltura nuclear puede desencadenar respuestas inmunitarias. Los micronúcleos son los productos del daño de los cromosomas como resultado del estrés genotóxico y la segregación

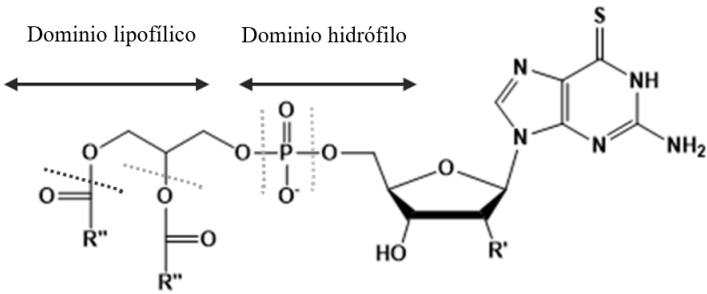
errónea de los cromosomas durante la división celular (Fenech y otros, 2011). El sensor de ADN citosólico cGAS reconoce los micronúcleos y
5 convierte el GTP (trifosfato de guanosina) y el ATP (trifosfato de adenosina) en segundo mensajero GAMPc (GMP-AMP cíclico) (Wu y otros, 2013). Después, la proteína adaptadora estimuladora del gen de IFN (STING) se une a GAMPc (Ablasser y otros, 2013; Diner y otros, 2013;
10 Gao y otros, 2013; Zhang y otros, 2013). Este complejo proceso activa la cinasa 1 unida a TANK (TBK1) y el factor regulador 3 de IFN (IRF3) (Liu y otros, 2015; Tanaka y Chen, 2012) y activa además la transcripción aguas abajo de IFN de tipo I y otras citocinas (reseñado en (Li y Chen, 2018)), lo
15 que aumenta en última instancia la detección innata.

Los cromosomas lineales eucariotas están protegidos por estructuras especiales llamadas telómeros (TTAGGG), que son esenciales para
20 mantener la estabilidad cromosómica (revisado en (Blackburn, 1991)). Los telómeros constituyen los ~10 kb finales de todos los cromosomas humanos y los 12-80 kb finales de todos los cromosomas de ratón (Lansdorp y otros, 1996; Zijlmans y otros, 1997). En todas las células somáticas humanas, los telómeros se acortan con cada división celular
25 debido al problema de replicación final y la ausencia de un mecanismo de mantenimiento de los telómeros (revisado en Greider, 1996). Sin embargo, los eucariotas unicelulares, las células de la línea germinal y las células cancerosas inmortales mantienen sus telómeros a una longitud constante
30 casi siempre mediante la activación de la enzima telomerasa (Greider y Blackburn, 1985; McEachern y Blackburn, 1996; Morin, 1989; Nakamura y otros, 1997; Singer y Gottschling, 1994; Yu y otros, 1990). La telomerasa es una enzima transcriptasa inversa que alarga los telómeros mediante la adición de repeticiones TTAGGG a los extremos de los cromosomas y se expresa en ~90 % de los tumores humanos, pero no en la mayoría de las células normales (Shay y Bacchetti, 1997). Por lo tanto, la telomerasa es un objetivo atractivo para desarrollar terapias antineoplásicas.

El análogo de nucleósido, 6-tio-2'-desoxiguanosina (6-tio-dG), es un nuevo y eficaz enfoque terapéutico en el campo del cáncer. Se conoce que su incorporación en telómeros sintetizados de novo por telomerasa induce daño en el ADN telomérico (Mender y otros, 2015a). Esto da como resultado una rápida reducción o detención del crecimiento del tumor en muchos modelos de xenoinjerto derivados de tumores con efectos secundarios mínimos (Mender y otros, 2018; Sengupta y otros, 2018; Zhang y otros, 2018). La ventaja más importante de esta terapia dirigida a telómeros sobre los inhibidores de la telomerasa directos es que 6-tio-dG no tiene un período de retraso largo para los efectos de destrucción tumoral. Adicionalmente, no inhibe directamente la telomerasa, pero es reconocida preferentemente por la telomerasa sobre otras polimerasas y se incorpora a los telómeros, lo que da como resultado una terminación inmediata de la cadena de ADN. Es importante destacar que su efecto es independiente de la longitud inicial del telómero al secuestrar la telomerasa tumoral para fabricar telómeros inestables (Mender y otros, 2015b). En la presente descripción se describen conjugados TIO-Lípidos que son útiles para la terapia dirigida a telómeros.

RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN

Un aspecto de la descripción incluye un profármaco conjugado con TIO-lípido que comprende un compuesto de Fórmula I



Fórmula I

en donde R' es H u OH y R'' es C3-C17.

5 En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula I se selecciona de uno o más de los siguientes compuestos:

5'-(1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina,

5'-(1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina,

10 5'-(1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-guanosina,

5'-(1,2-dioctanoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina,

5'-(1,2-dioctanoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-guanosina,

5'-(1,2-dihexanoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina,

15 5'-(1,2-dibutiril-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina,

5'-(1,2-dihexanoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-guanosina,

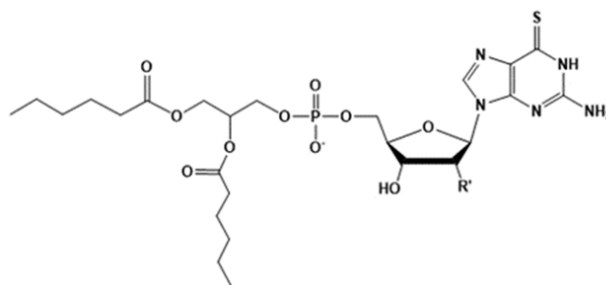
5'-(1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina,

5'-(1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina, y

20 5'-(1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina.

En algunas modalidades, el conjugado TIO-Lípido tiene la siguiente estructura:

25



30

En algunas modalidades, el profármaco conjugado con TIO-lípido es una composición farmacéutica.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica es una formulación que incluye al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, el profármaco conjugado con tio lípido se usa en un método para tratar a un sujeto que tiene cáncer, que comprende

administrar al sujeto un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el cáncer se selecciona de uno o más de

5 cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer de estómago, esófago, hígado, cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático,

10 glioblastoma, cáncer de hígado, vías biliares, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer de útero, cáncer de cuello uterino, carcinoma de endometrio, carcinoma de glándulas salivales, mesotelioma, cáncer de riñón, cáncer de vulva, cáncer pancreático, cáncer de tiroides,

15 carcinoma hepático, cáncer testicular, cáncer de piel, melanoma, cáncer de cerebro, neuroblastoma, mieloma, varios tipos de cáncer de cabeza y cuello, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma de células de Merkel, sarcoma de Ewing, síndrome mielodisplásico, mielofibrosis, neuroepitelioma oral, nasofaríngeo y periférico.

20

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

25 La Figura 1 muestra las curvas de respuesta a la dosis para el conjugado L6-fosfatidil-TIO en células cancerosas: A) Viabilidad celular de HT-29 después del tratamiento con el compuesto L6; B) Viabilidad celular de CT-26 después del tratamiento con el compuesto L6; C) Viabilidad celular de

30 HeLa después del tratamiento con el compuesto L6 y D) valores EC_{50} (μM) de 6-tio-dG y Compuesto L6 en varias líneas celulares.

La Figura 2 muestra la formación de TIF inducida por conjugados de fosfatidilo en células Hela – A) células Hela tratadas con 1 μM de conjugados de fosfatidilo; B) células Hela tratadas con 3 μM de conjugados de fosfatidilo.

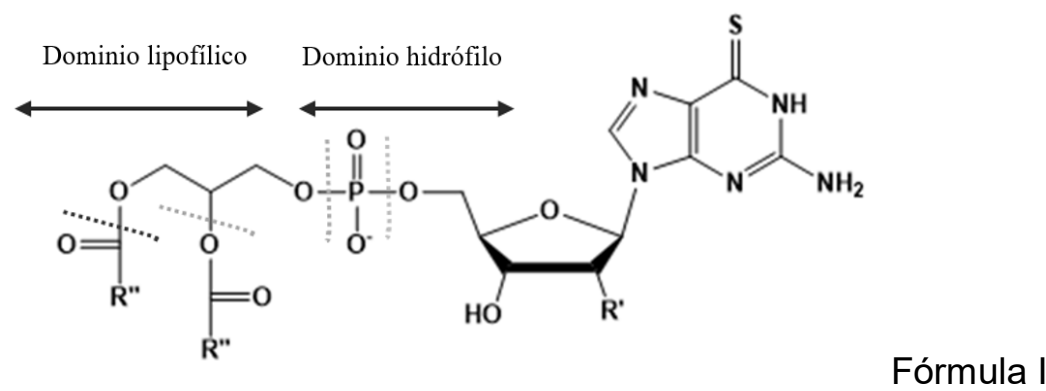
Figura 3- Muestra la actividad antitumoral in vivo del conjugado de fosfatidil-TIO (L6) en un modelo de carcinoma colorrectal xerográfico derivado de células HT 29 a dos concentraciones diferentes.

La Figura 4- muestra la actividad del conjugado de fosfatidil-TIO L6 en el modelo inmunocompetente- modelo de carcinoma de colon murino CT26- con L6 solo y L6 con un anti-PDL1.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS MODALIDADES

Un aspecto de la presente descripción son los profármacos de 6-tio-2'-desoxiguanosina (6-tio-dG o TIO) y 6-tio-2' guanosina (ribo-TIO).

En algunas modalidades, los profármacos contienen dos dominios: un dominio lipofílico y un dominio hidrófilo como se ilustra en la Fórmula I:



en donde R' es H u OH y R'' es C₃-C₁₇.

La actividad anticancerígena de estos profármacos puede definirse por una relación óptima entre los dos dominios del conjugado. El grupo lipídico está involucrado en el suministro y la PK, mientras que el farmacóforo de nucleósido está involucrado en la actividad antineoplásica y antiviral.

Además, en la sección de Ejemplo, se prepararon varios derivados de 5'-

fosfatidilo de TIO y ribo-TIO por primera vez. Además, se describe un método enzimático de una sola botella para la síntesis de liponucleótidos.

5 Los conjugados obtenidos se investigaron para determinar su actividad anticancerígena in vitro e in vivo.

Se prepararon y evaluaron los siguientes nuevos conjugados fosfatidil-tio

10 (Tabla 1):

Tabla 1- Conjugados fosfatidil-TIO

15	1	5'-(1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina	C14-6SdG
	2	5'-(1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina	C12-6SdG
	3	5'-(1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-guanosina	C12-6SriboG
	4	5'-(1,2-dioctanoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina	C8-6SdG
20	5	5'-(1,2-dioctanoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-guanosina	C8-6SriboG
	6	5'-(1,2-dihexanoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina	C6-6SdG
	7	5'-(1,2-dibutiril-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina	C4-6SdG
	8	5'-(1,2-dihexanoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-guanosina	C6-6SriboG
	9	5'-(1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina	C16-6SdG
25	10	5'-(1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina	C18-6SdG
	11	5'-(1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfo)-6-tio-2'-desoxiguanosina	C18:01-6SdG

Los conjugados de fosfatidilo C6 para 2'-desoxi- y 2'-hidroxi-6-tioguanosinas muestran la actividad antitumoral más alta, que es similar o

30 superior a la de los farmacóforos libres.

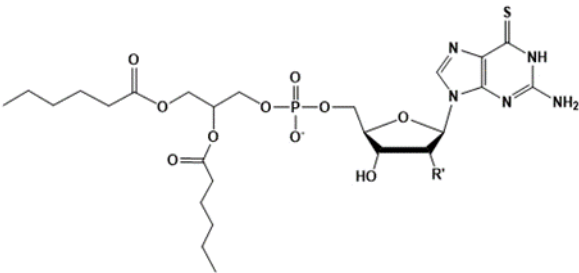
El derivado de C18 altamente lipofílico saturado es el compuesto menos activo, posiblemente debido a la retención del conjugado de membrana celular.

Curiosamente, el conjugado de C18:1 monoinsaturado (oleoil) demuestra

una actividad citotóxica esencialmente recuperada.

El tratamiento de células de células cancerosas con el conjugado C6 –TIO da como resultado una inducción eficiente de células tumorales circulantes positivas para focos inducidos por la disfunción de los telómeros (TIF) y formación de micronúcleos (Datos no mostrados).

En la Figura 1 se muestran las curvas de respuesta de dosis representativas de conjugado C6-Fosfatidil-TIO en células HT-29, células CT-26 y células HeLa. La estructura de C6-Fosfatidil-TIO se muestra más abajo:



La actividad in vitro de los conjugados fosfatidil-TIO se probó en células de carcinoma colorrectal (CRC) de HT29 (Tabla 2)

Tabla 2- Actividad anticancerígena in vitro de conjugados fosfatidil-TIO: Células HT 29 CRC

Farmacóforo*		Valores EC ₅₀ , (µM)								
		Lípido de fosfatidil								
-	C ₃	C ₄	C ₆	C ₈	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈	C _{18:1}
6-tio-dG		0.26	0.08	0.35		0.48	0.49	n.d**	12.35	0.46
Ribo-TIO			0.20	0.26		0.60				

*Donde los valores EC₅₀ para farmacóforos no conjugados fueron 0.20 µM y 0.14 µM, para 6-tio-dG y riboTIO, respectivamente

** No determinado debido a la solubilidad del compuesto

Otro aspecto de la descripción comprende un método para tratar un cáncer que incluye un cáncer resistente, refractario y/o metastásico, el

método comprende administrar al sujeto una primera cantidad o dosis de uno o más compuestos de conjugado de fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción en una cantidad terapéuticamente eficaz que es eficaz para acortar la longitud del telómero; reducir el tamaño de un tumor; reducir la velocidad de crecimiento de un tumor; reducir la incidencia de metástasis; eliminar metástasis, promover una respuesta inmunitaria; reducir la progresión del cáncer; aumentar la esperanza de vida del sujeto; o una de sus combinaciones.

En modalidades de este aspecto, el uno o más compuestos de conjugado de fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción se administran a un sujeto que lo necesita en combinación con una o más otras terapias contra el cáncer en donde la combinación es eficaz para acortar la longitud del telómero; reducir el tamaño de un tumor; reducir la velocidad de crecimiento de un tumor; reducir la incidencia de metástasis; promover una respuesta inmunitaria; reducir la progresión del cáncer; aumentar la esperanza de vida del sujeto; o una de sus combinaciones.

El término “sujeto” como se usa en la presente descripción se refiere a un ser humano o no humano, tal como primates, mamíferos y vertebrados. De acuerdo con algunas modalidades, el sujeto es un ser humano.

El término “sujeto que necesita dicho tratamiento o que lo necesita” como se usa en la presente descripción se refiere a (i) un paciente que padece de un cáncer; y (ii) un sujeto al que se le administrará uno o más compuestos de conjugado de fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción.

El término “dosis terapéuticamente eficaz” como se usa en la presente descripción se refiere a una dosis (es decir, dosis y frecuencia de administración) que elimina, reduce o previene la progresión de una

manifestación de la enfermedad particular en un porcentaje de una población. Un ejemplo de un componente terapéutico usado comúnmente es el ED₅₀, que describe la dosis en una dosificación particular que es terapéuticamente eficaz para una manifestación de la enfermedad particular en el 50 % de una población.

El término “efecto terapéutico” como se usa en la presente descripción se refiere a una consecuencia del tratamiento, cuyos resultados se consideran convenientes y beneficiosos. Un efecto terapéutico puede incluir, directa o indirectamente, el arresto, la reducción o la eliminación de una manifestación de la enfermedad. Un efecto terapéutico también puede incluir, directa o indirectamente, la detención, reducción o eliminación de la progresión de una manifestación de la enfermedad.

Los términos “cantidad terapéuticamente eficaz”, “cantidad eficaz” o “cantidad farmacéuticamente eficaz” de un agente activo se usan indistintamente para referirse a una cantidad que es suficiente para proporcionar el beneficio de tratamiento previsto. Una cantidad eficaz de un agente activo que puede emplearse de acuerdo con la invención descrita generalmente varía de generalmente aproximadamente 0.01 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 100 g/kg de peso corporal. Sin embargo, los niveles de dosificación se basan en una variedad de factores, que incluyen el tipo de lesión, la edad, el peso, el sexo, la afección médica del paciente, la gravedad de la afección, la vía de administración y el agente activo particular empleado. Por lo tanto, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse rutinariamente por un médico mediante el uso de métodos estándar.

El término “tratar” o “tratar” incluye abrogar, inhibir sustancialmente, ralentizar o revertir la progresión de una enfermedad, afección o trastorno,

mejorar sustancialmente los síntomas clínicos de una afección, prevenir sustancialmente la aparición de síntomas clínicos de una enfermedad, afección o trastorno, y proteger de síntomas dañinos o molestos. El tratamiento adicional se refiere a lograr uno o más de los siguientes: (a) reducir la gravedad del trastorno; (b) limitar el desarrollo de síntomas característicos del(de los) trastorno(s) que se trata(n); (c) limitar el empeoramiento de los síntomas característicos del o los trastornos que se tratan; (d) limitar la recurrencia del o los trastornos en pacientes que han tenido previamente el o los trastornos; y (e) limitar la recurrencia de los síntomas en pacientes que fueron previamente asintomáticos para el(los) trastorno(s).

De acuerdo con algunas modalidades, el cáncer tratado mediante el uso del uno o más compuestos de conjugado de fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción es, sin limitación, un carcinoma, un sarcoma, una leucemia, un linfoma/mieloma o un cáncer de cerebro/médula espinal. De acuerdo con algunas modalidades, el cáncer comprende un tumor sólido que comprende células tumorales, un cáncer metastásico que comprende células tumorales metastásicas, o una de sus combinaciones.

En determinadas modalidades, el cáncer puede originarse en la vejiga, sangre, hueso, médula ósea, cerebro, mama, colon, esófago, duodeno, intestino delgado, intestino grueso, colon, recto, ano, encía, cabeza, riñón, hígado, pulmón, nasofaringe, cuello, ovario, próstata, piel, estómago, testículo, lengua o útero. Un tumor puede comprender un crecimiento maligno o benigno.

El cáncer puede ser específicamente de los siguientes tipos histológicos, aunque no se limita a estos: neoplasia, maligna; carcinoma; carcinoma, indiferenciado; carcinoma de células gigantes y fusiformes; carcinoma microcítico; carcinoma papilar; carcinoma de células escamosas;

carcinoma linfoepitelial; carcinoma de células basales; carcinoma pilomatricial; carcinoma de células de transicionales; carcinoma de células transicionales papilares; adenocarcinoma; gastrinoma, maligno; colangiocarcinoma; carcinoma hepatocelular; carcinoma hepatocelular y colangiocarcinoma combinados; adenocarcinoma trabecular; carcinoma quístico adenoide; adenocarcinoma en pólipo adenomatoso; adenocarcinoma, poliposis coli familiar; carcinoma sólido; tumor carcinoide, maligno; adenocarcinoma de células bronquiolo-alveolar; adenocarcinoma papilar; carcinoma cromóforo; carcinoma acidófilo; adenocarcinoma oxifílico; carcinoma basófilo; adenocarcinoma de células claras; carcinoma de células granulares; adenocarcinoma folicular; adenocarcinoma papilar y folicular; carcinoma esclerosante no encapsulante; carcinoma de la corteza suprarrenal; carcinoma endometriode; carcinoma de apéndice cutáneo; adenocarcinoma apocrino; adenocarcinoma sebáceo; adenocarcinoma ceruminoso; carcinoma mucoepidermoide; cistadenocarcinoma; cistadenocarcinoma papilar; cistadenocarcinoma seroso papilar; cistadenocarcinoma mucinoso; adenocarcinoma mucinoso; carcinoma de células en anillo; carcinoma de conducto infiltrante; carcinoma medular; carcinoma lobular; carcinoma inflamatorio; enfermedad de Paget, mamaria; carcinoma de células acinares; carcinoma adenoescamoso; adenocarcinoma con metaplasia escamosa; timoma, maligno; tumor estromal ovárico, maligno; tecoma, maligno; tumor de células de la granulosa, maligno; androblastoma, maligno; carcinoma de células de Sertoli; tumor de células de Leydig, maligno; tumor de células lipídicas, maligno; paraganglioma, maligno; paraganglioma extramamario, maligno; feocromocitoma; glomangiosarcoma; melanoma maligno; melanoma amelanótico; melanoma de extensión superficial; melanoma maligno en nevus pigmentado gigante; melanoma de células epitelioides; nevus azul, maligno; sarcoma; fibrosarcoma; histiocitoma fibrótico, maligno; mixosarcoma; liposarcoma; leiomiosarcoma; rabdomiosarcoma;

5 rabdomiosarcoma embrionario; rabdomiosarcoma alveolar; sarcoma
estromal; tumor mixto, maligno; tumor mixto mulleriano; nefroblastoma;
hepatoblastoma; carcinosarcoma; mesenquimoma, maligno; tumor de
Brenner, maligno; tumor filodes, maligno; sarcoma sinovial; mesotelioma,
maligno; disgerminoma; carcinoma embrionario; teratoma, maligno; quiste
ovárico, maligno; coriocarcinoma; mesonefoma, maligno;
10 hemangiosarcoma; hemangioendotelioma, maligno; sarcoma de Kaposi;
hemangiopericitoma, maligno; linfangiosarcoma; osteosarcoma;
osteosarcoma yuxtacortical; condrosarcoma; condroblastoma, maligno;
condrosarcoma mesenquimatoso; tumor de células gigantes de hueso;
15 sarcoma de Ewing; tumor odontogénico, maligno; odontosarcoma
ameloblástico; ameloblastoma, maligno; fibrosarcoma ameloblástico;
pinealoma, maligno; cordoma; glioma, maligno; ependimoma;
astrocitoma; astrocitoma protoplasmático; astrocitoma fibrilar;
astroblastoma; glioblastoma; oligodendroglioma; oligodendroblastoma;
20 neuroectodérmico primitivo; sarcoma cerebeloso; ganglioneuroblastoma;
neuroblastoma; retinoblastoma; tumor neurogénico olfatorio; meningioma,
maligno; neurofibrosarcoma; neurilemmoma, maligno; tumor de células
granulares, maligno; linfoma maligno; enfermedad de Hodgkin; de
25 Hodgkin; paragranuloma; linfoma maligno, linfocítico pequeño; linfoma
maligno, difuso, de células grandes; linfoma maligno, folicular; micosis
fungoide; otros linfomas no hodgkinianos especificados; histiocitosis
maligna; mieloma múltiple; sarcoma mastocitario; enfermedad
30 inmunoproliferativa del intestino delgado; leucemia; leucemia linfoide;
leucemia de células plasmáticas; eritroleucemia; leucemia de células de
linfosarcoma; leucemia mieloide; leucemia basófila; leucemia eosinófila;
leucemia monocítica; leucemia mastocitaria; leucemia megacarioblástica;
sarcoma mieloide; y leucemia de células pilosas.

El cáncer puede ser cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de hígado
o cáncer de cerebro. El cáncer de pulmón puede ser cáncer de pulmón no

microcítico. El cáncer de colon puede ser cáncer colorrectal. El cáncer de hígado puede ser cáncer hepatocelular.

5

La actividad anticancerígena de uno o más compuestos conjugados fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción, se evaluó in vitro en varias líneas celulares cancerosas, de acuerdo con los procedimientos comúnmente usados para la evaluación de la citotoxicidad de los compuestos, como se describe en las siguientes publicaciones: Mender, I., Gryaznov, S., Dikmen, Z. G., Wright, W. E., & Shay, J. W. (2015). Inducción de la disfunción de telómeros mediada por el precursor de sustrato de telomerasa 6-tio-2'-deoxiguanosina. *Cancer Discovery*, 5, 82–95; Mender y otros, (2020). El estrés telomérico potencia la inmunidad antitumoral dependiente de STING. *Cancer Cell*, 38, 400–411.

10

15

Formulaciones farmacéuticas y vías de administración

20

Cuando se contemplen aplicaciones clínicas, las composiciones farmacéuticas se prepararán en una forma apropiada para la aplicación prevista. Generalmente, esto implicará preparar composiciones que están esencialmente libres de pirógenos, así como también de otras impurezas que podrían ser perjudiciales para los seres humanos o los animales.

25

Generalmente, se deseará emplear sales y tampones apropiados para hacer que los fármacos sean estables y permitir su captación por las células diana. Las composiciones acuosas de la presente descripción comprenden una cantidad eficaz del fármaco disuelto o disperso en un portador farmacéuticamente aceptable o medio acuoso. La frase “farmacéuticamente o farmacológicamente aceptable” se refiere a entidades moleculares y composiciones que no producen reacciones adversas, alérgicas u otras reacciones desfavorables cuando se administran a un animal o a un ser humano. Como se usa en la presente,

30

“portador farmacéuticamente aceptable” incluye solventes, tampones, soluciones, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción y similares aceptables para su uso en la formulación de productos farmacéuticos, tales como productos farmacéuticos adecuados para la administración a seres humanos. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce bien en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con los ingredientes activos de la presente descripción, se contempla su uso en composiciones terapéuticas. Los ingredientes activos suplementarios también pueden incorporarse a las composiciones, siempre que no inactiven los agentes de las composiciones.

Las composiciones activas de la presente descripción pueden incluir preparaciones farmacéuticas clásicas. La administración de estas composiciones de acuerdo con la presente descripción puede ser a través de cualquier vía común siempre que el tejido diana esté disponible a través de esa vía, pero generalmente incluye la administración sistémica. Esto incluye oral, nasal o bucal. Alternativamente, la administración puede ser por inyección intradérmica, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa, o intratumoral o regional a un tumor, tal como en la vasculatura tumoral. Tales composiciones normalmente se administrarían como composiciones farmacéuticamente aceptables, como se describe supra.

Los compuestos activos también pueden administrarse por vía parenteral o intraperitoneal. A modo de ilustración, las soluciones de los compuestos activos como base libre o sales farmacológicamente aceptables pueden prepararse en agua adecuadamente mezclada con un surfactante, tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones también pueden prepararse en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de estos y en aceites. En

condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones generalmente contienen un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos.

Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen, por ejemplo, soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Generalmente, estas preparaciones son estériles y fluidas en la medida en que existe una fácil inyectabilidad. Las preparaciones deben ser estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento y deben preservarse contra la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. Los solventes o medios de dispersión apropiados pueden contener, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de estos, y aceites vegetales. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de surfactantes. La prevención de la acción de microorganismos puede lograrse mediante varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación de los compuestos activos en una cantidad apropiada en un solvente junto con cualquier otro ingrediente (por ejemplo, como se enumeró anteriormente) según se desee, seguido de esterilización filtrada.

Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación de los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que
5 contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes deseados, por ejemplo, como se enumeró anteriormente. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos incluyen técnicas de secado al vacío y
10 liofilización que producen un polvo del(de los) ingrediente(s) activo(s) más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución previamente filtrada estéril de este.

15 Las composiciones de la presente descripción generalmente pueden formularse en una forma neutra o sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, sales de adición ácida (formadas con los grupos amino libres de la proteína) derivadas de ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o de ácidos orgánicos (por
20 ejemplo, acético, oxálico, tartárico, mandélico y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres de la proteína también pueden derivarse de bases inorgánicas (por ejemplo, sodio, potasio, amonio, calcio o hidróxidos férricos) o de bases orgánicas (por ejemplo,
25 isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares.

Tras la formulación, las soluciones se administran preferentemente de una manera compatible con la formulación de dosificación y en una cantidad
30 que sea terapéuticamente eficaz. Las formulaciones pueden administrarse fácilmente en una variedad de formas de dosificación tales como soluciones inyectables, cápsulas de liberación de fármacos y similares. Para la administración parenteral en una solución acuosa, por ejemplo, la solución generalmente se amortigua adecuadamente y el diluyente líquido primero se vuelve isotónico, por ejemplo, con suficiente solución salina o glucosa. Tales soluciones acuosas pueden usarse, por ejemplo, para la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal.

Preferentemente, se emplean medios acuosos estériles como se conoce por los expertos en la técnica, particularmente a la luz de la presente descripción. A modo de ilustración, una sola dosis puede disolverse en 1 ml de solución de NaCl isotónica y añadirse a 1,000 ml de líquido hipodérmico o inyectarse en el sitio de infusión propuesto, (ver por ejemplo, "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15ta edición, páginas 1035-1038 y 1570-1580). Se producirá necesariamente alguna variación en la dosis en dependencia de la condición del sujeto que se trata. La persona responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la dosis adecuada para el sujeto individual. Además, para la administración humana, las preparaciones deben cumplir con los estándares de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza según lo requiera la Oficina de productos biológicos de la FDA.

La cantidad de dosis real de una composición de acuerdo con ciertas modalidades de la presente descripción administrada a un sujeto puede determinarse por factores físicos y fisiológicos tales como el compuesto específico empleado, la edad, el estado de salud general del sujeto, la dieta, el peso corporal, la gravedad de la afección, el tipo de enfermedad que se trata, las intervenciones terapéuticas previas o simultáneas, la idiopatía del paciente, las velocidades de absorción, las velocidades de distribución, las velocidades de inactivación, las velocidades de excreción, el tiempo de administración, la vía de administración, y el juicio de la persona que supervisa la administración. En dependencia de la dosis y la vía de administración, el número de administraciones de una dosis preferida y/o una cantidad eficaz puede variar de acuerdo con la respuesta del sujeto. El ingrediente activo puede administrarse de una vez, o puede dividirse en varias dosis más pequeñas que se administrarán a intervalos de tiempo variables. Como tal, se entiende que para cualquier sujeto en particular, los regímenes de dosificación específicos podrían ajustarse con el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio profesional

de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración establecidos en la presente descripción son ilustrativos solamente y no pretenden limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada.

Los conjugados fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción se incluyen en el portador o diluyente farmacéuticamente aceptable en una cantidad suficiente para suministrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz para la indicación deseada, sin causar efectos tóxicos graves en el paciente tratado. Una dosis preferida de los conjugados fosfatidil-TIO para todas las afecciones mencionadas en la presente descripción está en el intervalo de aproximadamente 10 ng/kg a 100 mg/kg, preferentemente de 0.1 a 50 mg/kg por día, más generalmente de 0.5 a aproximadamente 25 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto por día. A modo de ejemplo no limitativo, una dosificación típica puede variar de 50.01-20 % p/p en un portador adecuado. De manera similar, el compuesto puede administrarse en cualquier forma de dosificación unitaria adecuada, que incluye, pero sin limitarse a una que contenga menos de 1 mg, 1 mg a 3,000 mg, o 5 mg a 1,000 mg de conjugados fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción.

Las composiciones pueden administrarse de forma continuada o continua; según sea necesario; o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más veces, que incluyen, entre otros, uno que contenga menos de 1 mg.

Terapia combinada

Para aumentar la eficacia de un tratamiento, puede ser conveniente combinar composiciones de la presente descripción con un segundo tratamiento o composición farmacéutica. Por ejemplo, un método de uso

puede incluir además la administración de una segunda composición farmacéutica que comprende un agente antineoplásico u otro agente eficaz en el tratamiento de la enfermedad hiperproliferativa. Un agente antineoplásico puede afectar negativamente al cáncer en un sujeto, por ejemplo, al matar las células cancerosas, inducir la apoptosis en las células cancerosas, reducir la velocidad de crecimiento de las células cancerosas, reducir la incidencia o el número de metástasis, reducir el tamaño del tumor, inhibir el crecimiento del tumor, reducir el suministro de sangre a un tumor o células cancerosas, promover una respuesta inmunitaria contra las células cancerosas o un tumor, prevenir o inhibir la progresión del cáncer, o aumentar la vida útil de un sujeto con cáncer. Más generalmente, una segunda composición farmacéutica puede administrarse en una cantidad eficaz o cantidad eficaz combinada para matar o inhibir la proliferación de ciertas células.

En algunas modalidades, un método de tratamiento puede comprender una coadministración simultánea. Este proceso puede implicar la administración al mismo tiempo o secuencialmente. La coadministración puede lograrse al poner en contacto la célula con una única composición o formulación farmacéutica que incluye uno o más de los conjugados fosfatidil-TIO y otro agente antineoplásico, o al poner en contacto la célula con dos composiciones o formulaciones distintas, al mismo tiempo, en donde una composición incluye uno o más de los compuestos conjugados fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción y la otra incluye el(los) segundo(s) agente(s). De manera similar, dos composiciones pueden administrarse no al mismo tiempo sino en proximidad temporal entre sí, por ejemplo, el mismo día o dentro de la misma semana.

En otras modalidades, un método de tratamiento puede comprender una primera etapa en donde se administra una composición farmacéutica que comprende uno o más de los conjugados fosfatidil-TIO y una segunda

etapa en donde se administra una segunda composición farmacéutica. La primera etapa y la segunda etapa pueden ser secuenciales en el tiempo, separadas en el tiempo (minutos, días, semanas o meses), o superpuestas en el tiempo. Además, el orden secuencial de las etapas de tratamiento puede invertirse o repetirse.

Para estar seguros, puede emplearse cualquier combinación de etapas de tratamiento. A manera de ejemplo, la administración de uno o más de los compuestos conjugados fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción es “A” y el tratamiento con un agente secundario es “B”:

A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B A/B/B B/A/A A/B/B/B B/A/B/B
B/B/B/A B/B/A/B A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A
B/A/B/A B/A/A/B A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A

En el contexto de la presente descripción, se contempla que la administración de una composición farmacéutica que comprende uno o más de los conjugados fosfatidil-TIO podría usarse junto con un tratamiento B, tal como terapia génica, intervención quimioterapéutica, radioterapéutica o inmunoterapéutica, además de otros agentes proapoptóticos o reguladores del ciclo celular. También se contempla que varias terapias estándar, así como también la intervención quirúrgica, pueden aplicarse en combinación con la terapia de acortamiento de telómeros y de inducción de la disfunción de telómeros descrita.

a. Quimioterapia

Las quimioterapias incluyen, por ejemplo, cisplatino (CDDP), carboplatino, procarbazona, mecloretamina, ciclofosfamida, camptotecina, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, busulfán, nitrosurea, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, bleomicina, plicomicina, mitomicina,

etopósido (VP16), tamoxifeno, raloxifeno, agentes de unión al receptor de estrógeno, taxol, gemcitabina, navelbina, inhibidores de la farnesil-proteína transferasa, transplatino, 5-fluorouracilo, vincristina, vinblastina y metotrexato, o cualquier variante análoga o derivada de los anteriores.

b. Radioterapia

Las radioterapias pueden causar daño al ADN e incluyen lo que comúnmente se conoce como rayos X, y/o el suministro dirigido de radioisótopos a células tumorales. También se contemplan otras formas de factores dañinos del ADN tales como microondas y radiación UV.

c. Inmunoterapia

Los agentes inmunoterapéuticos, generalmente, se basan en el uso de células efectoras inmunitarias y moléculas para dirigirse a las células cancerosas y destruirlas. La inmunoterapia, por lo tanto, podría usarse como parte de una terapia combinada, junto con la administración de una composición farmacéutica que comprende uno o más de los conjugados fosfatidil-TIO. La modalidad de inmunoterapia se refiere a la orientación de la célula tumoral a través de algún marcador de la célula tumoral que es susceptible de orientarse, es decir, no está presente en la mayoría de otras células. Existen muchos marcadores tumorales y cualquiera de estos puede ser adecuado para dirigirse a una segunda modalidad de tratamiento en el contexto de la presente descripción. Los marcadores tumorales comunes incluyen antígeno carcinoembrionario, antígeno específico de próstata, antígeno asociado a tumor urinario, antígeno fetal, tirosinasa (p97), gp68, TAG-72, HMFG, antígeno de Lewis sialilado, MucA, MucB, PLAP, receptor de estrógeno, receptor de laminina, erb B y p155.

d. Cirugía

5 La cirugía curativa es un tratamiento contra el cáncer que puede usarse
junto con una composición farmacéutica que comprende uno o más de los
conjugados fosfatidil-TIO. La cirugía curativa incluye la resección en la que
se elimina, extirpa y/o destruye físicamente todo o parte del tejido
10 canceroso. La resección tumoral se refiere a la eliminación física de al
menos parte de un tumor. Además de la resección tumoral, el tratamiento
mediante cirugía incluye cirugía con láser, criocirugía, electrocirugía y
cirugía controlada microscópicamente (cirugía de Mohs). Se contempla
15 además que la composición de la presente descripción puede
administrarse junto con la eliminación de cánceres superficiales,
precánceres o cantidades incidentales de tejido normal. Tras la extirpación
de parte de todas las células cancerosas, tejido o tumor, puede formarse
una cavidad en el cuerpo. El tratamiento puede lograrse mediante la
20 administración de una composición farmacéutica que comprende uno o
más de los conjugados fosfatidil-TIO.

e. Otros agentes antineoplásicos

25 Se contempla que puedan usarse otros agentes antineoplásicos en
combinación con uno o más de los conjugados fosfatidil-TIO descritos en
la presente descripción para mejorar aditivamente o sinérgicamente la
30 eficacia terapéutica del tratamiento.

Estos agentes adicionales incluyen agentes inmunomoduladores, agentes
que afectan la regulación positiva de receptores de superficie celular y
uniones GAP, agentes citostáticos y de diferenciación, inhibidores de la
adhesión celular, o agentes que aumentan la sensibilidad de las células
hiperproliferativas a inductores apoptóticos. Los agentes
inmunomoduladores incluyen factor de necrosis tumoral; interferón alfa,

beta y gamma; IL-2 y otras citocinas; F42K y otros análogos de citocinas; o MIP-1, MIP-1beta, MCP-1, RANTES y otras quimiocinas. Se contempla
5 además que la regulación positiva de receptores de superficie celular o sus ligandos tales como Fas/ligando de Fas, DR4 o DR5/Trail potenciaría las capacidades de inducción de la apoptosis de la presente descripción mediante el establecimiento de un efecto autocrino o paracrino en células
10 hiperproliferativas. El aumento de la señalización intercelular mediante el aumento del número de uniones GAP aumentaría los efectos antiproliferativos sobre la población celular hiperproliferativa vecina. En otras modalidades, los agentes citostáticos o de diferenciación pueden
15 usarse en combinación con la presente invención para mejorar la eficacia antihiperproliferativa de los tratamientos. Se contemplan inhibidores de la adhesión celular para mejorar la eficacia de la presente invención. Los ejemplos de inhibidores de la adhesión celular son inhibidores de la cinasa
20 de adhesión focal (FAK) y Lovastatina. Se contempla además que otros agentes antineoplásicos que aumentan la sensibilidad de una célula hiperproliferativa a la apoptosis, y los inhibidores de la transducción de señales como el anticuerpo c225, podrían usarse en combinación con uno o más de los conjugados fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción
25 para mejorar la eficacia del tratamiento.

Por último, los agentes adicionales también pueden incluir agentes antineoplásicos que se caracterizan ampliamente como antimetabolitos,
30 inhibidores de la topoisomerasa I y II, agentes alquilantes e inhibidores de microtúbulos (por ejemplo, taxol). Los agentes antineoplásicos para usar en la presente invención incluyen, por ejemplo, aldesleucina; alemtuzumab; alitretinoína; alopurinol; altretamina; amifostina; anastrozol; trióxido de arsénico; asparaginasa; BCG vivo; cápsulas de bexaroteno; gel de bexaroteno; bleomicina; busulfán intravenoso; busulfán oral; calusterona; capecitabina; carboplatino; carmustina; carmustina con Implante Polifeprosán 20; celecoxib; clorambucilo; cisplatino; cladribina;

ciclofosfamida; citarabina; citarabina liposomal; dacarbazina; dactinomicina; actinomicina D; darbepoetina alfa; daunorrubicina liposomal; daunorrubicina, daunomicina; diftiox de denileucina; dexrazoxano; docetaxel; doxorubicina; doxorubicina liposomal; propionato de dromostanolona; solución B de Elliott; epirubicina; epoetina alfa con estramustina; fosfato de etopósido; etopósido (VP-16); exemestano; filgrastim; floxuridina (intraarterial); fludarabina; fluorouracilo (5-FU); fulvestrant; gemtuzumab ozogamicina; acetato de goserelina; hidroxiurea; ibritumomab tiuxetán; idarrubicina; ifosfamida; mesilato de imatinib; interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; irinotecán; letrozol; leucovorina; levamisol; lomustina (CCNU); mecloretamina (mostaza de nitrógeno); acetato de megestrol; melfalán (L-PAM); mercaptopurina (6-MP); mesna; metotrexato; metoxsaleno; mitomicina C; mitotano; mitoxantrona; fenpropionato de nandrolona; Nofetumomab; LOddC; Oprelvekin; oxaliplatino; paclitaxel; pamidronato; pegademasa; pegaspargasa; pegfilgrastim; pentostatina; pipobromán; plicamicina; mitramicina; porfímero de sodio; procabazina; quinacrina; rasburicasa; rituximab; sargramostim; estreptozocina; talbuvudina (LDT); talco; tamoxifeno; temozolomida; tenipósido (VM-26); testolactona; tioguanina (6-TG); tiotepa; topotecán; toremifeno; tositumomab; trastuzumab; tretinoína (ATRA); mostaza de uracilo; valrubicina; valtorecitabina (LDC monoval); vinblastina; vinorelbina; zoledronato; y mezclas de estos, entre otros.

La terapia hormonal también puede usarse en combinación con la administración de una composición farmacéutica puede usarse en combinación con uno o más de los conjugados fosfatidil-TIO. El uso de hormonas puede emplearse en el tratamiento de ciertos cánceres, tales como cáncer de mama, próstata, ovario o cuello uterino, para reducir el nivel o bloquear los efectos de ciertas hormonas tales como testosterona o estrógeno. Este tratamiento a menudo se usa en combinación con al

menos otra terapia contra el cáncer como una opción de tratamiento o para reducir el riesgo de metástasis.

5

La presente descripción proporciona un tratamiento secuencial de cánceres mediante el uso de los conjugados fosfatidil-TIO seguido de terapia con PD-L1, PD-1 y/o CTLA-4. Los períodos para cada tratamiento pueden variar y se contempla que el intervalo corto entre tratamientos será ventajoso. Por ejemplo, para los conjugados fosfatidil-TIO el tratamiento puede ser tan poco como 2 días, pero puede ser 3, 4 o más días, que incluyen 2-4 días. El intervalo antes del tratamiento con PD-L1, PD-1 y/o CTLA-4 debe ser de al menos un día y puede ser de hasta 14 días, como 2-4 días. Podría ser necesario evitar un solapamiento entre los conjugados fosfatidil-TIO y PD-L1, PD-1 y/o CTLA-4 debido a los efectos potencialmente perjudiciales de los conjugados fosfatidil-TIO en las células T efectoras activadas.

10

15

20

La dosis diaria de conjugados fosfatidil-TIO descritos en la presente descripción estará entre 0.5 mg/kg y 10 mg/kg, preferentemente intravenosa u oral. La dosis de PD-L1, PD-1 y/o CTLA-4 será consistente con los esquemas de dosificación actuales aprobados.

25

En el contexto de la presente descripción, también se contempla que los conjugados fosfatidil-TIO y anti PD-L1 tales como atezolizumab o un conjugado de fosfatidil-TIO y anti PD-1 tal como Libtayo® o anti CTAL-4 podrían usarse junto con la intervención quimio- o radioterapéutica, u otros tratamientos. También puede resultar eficaz, en particular, combinar un conjugado de fosfatidil-TIO descrito en la presente descripción, anti PD-L1, anti PD-1 o anti CTLA-4 con otras terapias que se dirigen a diferentes aspectos de la función de las células cancerosas.

30

Para destruir células, inhibir el crecimiento celular, inhibir la metástasis,

inhibir la angiogénesis o de cualquier otra manera invertir o reducir el fenotipo maligno de las células tumorales, mediante el uso de los métodos y composiciones de la presente descripción, generalmente se pondría en contacto una célula “diana” con un conjugado de fosfatidil-TIO descrito en la presente descripción y al menos otro agente. Estas composiciones se proporcionarían en una cantidad secuencial o combinada eficaz para matar o inhibir la proliferación de la célula. Este proceso puede implicar poner en contacto las células con conjugado de fosfatidil-TIO / anti PD-L1, anti PD-1 o anti CTLA-4 y el(los) otro(s) agente(s) o factor(es) al mismo tiempo. Esto puede lograrse al poner en contacto la célula con una sola composición o formulación farmacológica que incluye ambos agentes, o al poner en contacto la célula con dos composiciones o formulaciones distintas, al mismo tiempo, en donde una composición incluye los profármacos de interferón de acuerdo con la presente descripción y la otra incluye el otro agente.

Alternativamente, los conjugados fosfatidil-TIO / terapia anti-PD-L1, anti-PD-1 o anti-CTLA-4 pueden preceder o seguir al tratamiento con el otro agente en intervalos que varían de minutos a semanas. En modalidades en las que el otro agente y los profármacos de interferón se aplican por separado a la célula, generalmente se garantizaría que no expirara un período de tiempo significativo entre cada suministro, de manera que el agente y el constructo de expresión aún pudieran ejercer un efecto combinado ventajosamente sobre la célula. En tales casos, se contempla que una persona se ponga en contacto con la célula con ambas modalidades dentro de aproximadamente 12-24 horas entre sí y, con mayor preferencia, dentro de aproximadamente 6-12 horas entre sí, con un tiempo de retardo de solo aproximadamente 12 horas siendo el más preferido. En algunas situaciones, puede ser conveniente extender el período de tiempo para el tratamiento significativamente, sin embargo,

cuando transcurren varios días (2, 3, 4, 5, 6 o 7) a varias semanas (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) entre las administraciones respectivas.

También es concebible que se desee más de una administración de interferón profármacos o el otro agente. Pueden emplearse varias combinaciones, donde un conjugado de fosfatidil-TIO descrito en la presente descripción/terapia anti-PD-L1, anti-PD-1 o anti-CTLA-4 es “A” y la otra terapia es “B”, como se ejemplifica más abajo:

A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B B/A/A A/B/B B/B/B/A B/B/A/B
A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A B/A/B/A B/A/A/B B/B/B/A
A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A A/B/B/B B/A/B/B B/B/A/B

Se contemplan otras combinaciones. Nuevamente, para lograr la destrucción celular, ambos agentes se suministran a una célula en una cantidad combinada eficaz para destruir la célula.

Los agentes o factores adecuados para la terapia contra el cáncer incluyen cualquier compuesto químico o método de tratamiento que induce daño al ADN cuando se aplica a una célula. Tales agentes y factores incluyen radiación y ondas que inducen daño al ADN, tales como irradiación, microondas, emisiones electrónicas y similares. Puede usarse una variedad de compuestos químicos, también descritos como “agentes quimioterapéuticos” o “genotóxicos”. Esto puede lograrse mediante la irradiación del sitio tumoral localizado; alternatively, las células tumorales pueden ponerse en contacto con el agente mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica.

Se contemplan varias clases de agentes quimioterapéuticos para su uso con la presente descripción. Otros quimioterápicos incluyen antagonistas

selectivos del receptor de estrógeno (“SERM”), tales como tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno (afimoxeno), falsodex, raloxifeno, bazedoxifeno, clomifeno, femarelle, lasofoxifeno, ormeloxifeno y toremifeno. Los agentes camptotecina, actinomicina D y mitomicina C son fármacos quimioterápicos usados comúnmente. La descripción también abarca el uso de una combinación de uno o más agentes dañinos del ADN, ya sea basados en radiación o compuestos reales, tales como el uso de rayos X con cisplatino o el uso de cisplatino con etopósido. El agente puede prepararse y usarse como una composición terapéutica combinada.

La proteína de choque térmico 90 es una proteína reguladora que se encuentra en muchas células eucariotas. Se ha demostrado que los inhibidores de HSP90 son útiles en el tratamiento del cáncer. Tales inhibidores incluyen geldanamicina, 17-(alilamino)-17-demetoxigeldanamicina, PU-H71 y rifabutina.

También se prevén agentes que reticulan directamente el ADN o forman aductos. Pueden usarse agentes tales como cisplatino y otros agentes alquilantes del ADN. La cisplatina se ha usado ampliamente para tratar el cáncer, con dosis eficaces usadas en aplicaciones clínicas de 20 mg/m² durante 5 días cada tres semanas para un total de tres cursos. El cisplatino no se absorbe por vía oral y, por lo tanto, debe suministrarse por inyección intravenosa, subcutánea, intratumoral o intraperitoneal.

Los agentes que dañan el ADN también incluyen compuestos que interfieren con la replicación del ADN, la mitosis y la segregación cromosómica. Tales compuestos quimioterápicos incluyen adriamicina, también conocida como doxorubicina, etopósido, verapamilo, podofilotoxina y similares. Ampliamente usados en un entorno clínico para el tratamiento de neoplasias, estos compuestos se administran a través de inyecciones en bolo por vía intravenosa a dosis que varían de 25-75

mg/m² a intervalos de 21 días para doxorrubicina, a 35-50 mg/m² para etopósido por vía intravenosa o duplicar la dosis intravenosa por vía oral.

5 También se contemplan inhibidores de microtúbulos, tales como taxanos. Estas moléculas son diterpenos producidos por las plantas del género *Taxus* e incluyen paclitaxel y docetaxel.

10 Los inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico, tales como Iressa, mTOR, la diana de rapamicina en mamíferos (también conocida como proteína de unión a FK506 12-proteína asociada a rapamicina 1 (FRAP1)), es una proteína cinasa de serina/treonina que
15 regula el crecimiento celular, la proliferación celular, la motilidad celular, la supervivencia celular, la síntesis de proteínas y la transcripción. Por lo tanto, se contemplan la rapamicina y los análogos de esta ("rapálogos") para su uso en la terapia contra el cáncer de acuerdo con la presente descripción. Otro inhibidor del EGFR de utilidad particular en la presente
20 descripción es el gefitinib.

Otra terapia posible es el TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa), una citocina involucrada en la inflamación sistémica y un miembro de un grupo
25 de citocinas que estimulan la reacción de fase aguda. El papel primario del TNF es en la regulación de las células inmunitarias. El TNF también es capaz de inducir la muerte celular apoptótica, inducir la inflamación e inhibir la tumorigénesis y la replicación viral.

30 Los agentes que interrumpen la síntesis y la fidelidad de los precursores y subunidades de ácido nucleico también conducen al daño del ADN. Como tal, se han desarrollado varios precursores de ácido nucleico. Son particularmente útiles los agentes que se han sometido a pruebas exhaustivas y están fácilmente disponibles. Como tal, los agentes tales como el 5 fluorouracilo (5-FU), se usan preferentemente por el tejido neoplásico, lo que hace que este agente sea particularmente útil para

dirigirse a las células neoplásicas. Aunque es bastante tóxico, el 5-FU, es aplicable en una amplia gama de portadores, que incluye el tópico, sin embargo, la administración intravenosa con dosis que varían de 3 a 15 mg/kg/día se usa comúnmente.

Otros factores que causan daño al ADN y que se han usado ampliamente incluyen lo que comúnmente se conoce como rayos γ , rayos X y/o el suministro dirigido de radioisótopos a células tumorales. También se contemplan otras formas de factores dañinos del ADN tales como microondas y radiación UV. Es muy probable que todos estos factores afecten a un amplio intervalo de daño en el ADN, en los precursores del ADN, la replicación y reparación del ADN, y el ensamblaje y mantenimiento de los cromosomas. Los intervalos de dosificación para los rayos X varían desde dosis diarias de 50 a 200 roentgenios durante períodos prolongados de tiempo (3 a 4 semanas), hasta dosis únicas de 2,000 a 6,000 roentgenios. Los intervalos de dosificación de los radioisótopos varían ampliamente y dependen de la semivida del isótopo, la intensidad y el tipo de radiación emitida, y la captación por las células neoplásicas.

Además, también se contempla que puede usarse una inmunoterapia distinta, una terapia hormonal, una terapia con toxinas y/o cirugía.

El experto se dirige a "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15ta edición, capítulo 33, en particular las páginas 624-652. Se producirá necesariamente alguna variación en la dosis en dependencia de la condición del sujeto que se trata. La persona responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la dosis adecuada para el sujeto individual. Además, para la administración humana, las preparaciones deben cumplir con los estándares de esterilidad,

pirogenicidad, seguridad general y pureza según lo requiera la Oficina de productos biológicos de la FDA.

5

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar las modalidades preferidas de la invención. Los expertos en la técnica apreciarán que las técnicas descritas en los ejemplos que siguen representan técnicas descubiertas por el inventor para funcionar bien en la práctica de la invención, y por lo tanto pueden considerarse modos preferidos para su práctica. Sin embargo, los expertos en la técnica deben, a la luz de la presente descripción, apreciar que pueden realizarse muchos cambios en las modalidades específicas que se describen y aún obtener un resultado similar o igual sin apartarse del espíritu y alcance de la invención.

10

15

EJEMPLOS

20

Preparación de derivados de 5'-fosfatidilo de 6TdG y 6-tioguanosina (6TG) mediante el uso de fosfolipasa D microbiana (PLD):

Materiales y métodos:

25

Las síntesis de nucleótidos de fosfatidil se realizaron en mezclas de reacción bifásicas en agitación (10–35 ml, 37 °C) que consiste en diclorometano y tampón de acetato de sodio 0.2 M que contiene CaCl_2 0.15 M (pH 6.0), en la relación de 6/4, v/v. La mezcla de reacción también contenía (por 1 ml): 5–10 μmol de nucleósido, 6–12 μmol de fosfatidilcolina respectiva (la relación molar de nucleósido a fosfatidilcolina 1:1.2 a 1:1.6) y aproximadamente 0.2 mg de PLD.

30

Los productos se aislaron mediante el uso de columna de gel de Sílice LiChroprep 60, 40-63 μm .

La enzima PLD seca se obtuvo del cultivo de la cepa BIM B-428D de

Streptomyces netropsis.

5

Resultados:

Dieciséis liponucleótidos que contenían grupos fosfatidilo con residuos de ácidos grasos saturados e insaturados de varias longitudes (C4–C18) se obtuvieron. La pureza de los compuestos fue de al menos 90 % según se determinó por cromatografía de capa fina (TLC). La velocidad de conversión de los nucleósidos en liponucleótidos varió de 33 a 83 % mol en dependencia del nucleósido y las composiciones de ácidos grasos de fosfolípidos. La estructura de los compuestos obtenidos se confirmó mediante espectroscopia UV y espectrometría de masas LC.

10

15

20

25

30