

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 809 805**

51 Int. Cl.:

A61K 31/538 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.09.2016 PCT/EP2016/071599**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.03.2017 WO17046108**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.09.2016 E 16763556 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2020 EP 3349759**

54 Título: **Composiciones de dactinomicina y métodos para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda**

30 Prioridad:

14.09.2015 US 201562218433 P

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

05.03.2021

73 Titular/es:

FALINI, BRUNANGELO (50.0%)

Via San Giuseppe 3/F

06100 Perugia, IT y

MARTELLI, MARIA (50.0%)

72 Inventor/es:

FALINI, BRUNANGELO y

MARTELLI, MARIA

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 809 805 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones de dactinomicina y métodos para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda

Campo de divulgación

5 La divulgación está dirigida al campo de la biología molecular en lo que se refiere al cribado genético, el diagnóstico y el tratamiento de pacientes que tienen cáncer.

Antecedentes

La leucemia mieloide aguda (AML) mutada por NPM1 es una entidad de leucemia distinta que representa un tercio de los casos de AML en adultos. Existe una necesidad largamente sentida pero aún no satisfecha de tratamientos efectivos para la AML, incluida la AML mutada por NPM1.

10 Resumen

La divulgación proporciona composiciones para uso en métodos para el tratamiento de la AML y, en particular, el tratamiento de la AML mutada por NPM1 que aborda la patología subyacente además de los síntomas clínicos de la AML.

15 La divulgación proporciona composiciones para uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que comprende Dactinomicina. En los métodos preferidos, la AML es AML mutada por NPM1. En ciertas realizaciones, la AML mutada por NPM1 no tiene repeticiones de duplicación en tándem internas de FLT3.

Las composiciones de Dactinomicina de la divulgación pueden comprender además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 De acuerdo con la divulgación, una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición está entre 1 y 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ o entre 10 y 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, incluidos los puntos finales. Las dosificaciones bajas son efectivas durante períodos de tiempo más largos. Por ejemplo, se puede usar una dosis de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ para una dosificación diaria y/o de mantenimiento a largo plazo para evitar recaídas. Las dosificaciones altas se pueden usar de forma segura durante períodos de tiempo más cortos. Por ejemplo, se pueden usar 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ durante un día, seguido de una disminución de la dosificación o un período sin tratamiento, por ejemplo, un período de dos semanas sin tratamiento entre ciclos de tratamiento de un solo día. Alternativamente, se puede usar una dosis alta para aumentar o maximizar rápidamente los niveles de plasma sanguíneo por encima de un umbral efectivo mínimo cuando se sigue al día siguiente o después de un período sin tratamiento con una dosis más baja para mantener la concentración de Dactinomicina en plasma sanguíneo. En ciertas realizaciones de la divulgación, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición es de aproximadamente 15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ o es de 15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$. Alternativamente, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición es de aproximadamente 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ o es de 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$. La cantidad terapéuticamente efectiva de la composición puede administrarse una vez al día o al menos una vez al día.

35 Se pueden administrar cantidades terapéuticamente eficaces de una composición de Dactinomicina de la divulgación durante al menos un ciclo. En ciertas realizaciones de la divulgación, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición se administra durante al menos dos ciclos. En ciertas realizaciones de los métodos de la divulgación, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición se administra durante seis ciclos. En ciertas realizaciones, un ciclo puede comprender o consistir en 5 días consecutivos de tratamiento. El intervalo entre dos ciclos de tratamiento, o período de interciclo, es de al menos dos semanas. El intervalo entre dos ciclos de tratamiento, o período interciclo, puede ser de al menos cuatro semanas.

40 La divulgación puede comprender además la etapa de administrar una transfusión de sangre al sujeto. En ciertas realizaciones, la composición de Dactinomicina y la transfusión de sangre pueden administrarse simultáneamente. Alternativamente, la composición de Dactinomicina y la transfusión de sangre pueden administrarse secuencialmente. En ciertas realizaciones, la composición de Dactinomicina se administra antes de la transfusión de sangre. Por ejemplo, se puede completar un ciclo de administración de la composición de Dactinomicina y la transfusión de sangre se puede administrar después del ciclo de terapia con Dactinomicina o entre dos ciclos de terapia con Dactinomicina.

45 Las composiciones de Dactinomicina de la divulgación pueden administrarse sistémicamente mediante inyección intravenosa o infusión. Alternativamente, o además, las composiciones de Dactinomicina de la divulgación pueden administrarse sistémicamente por cualquier ruta conocida en la técnica.

50 Los sujetos de la divulgación pueden tener al menos 50, 60 o 70 años de edad. En ciertas realizaciones, los sujetos de la divulgación pueden no haber respondido a una o más terapias contra el cáncer antes de la administración de una composición de Dactinomicina de la divulgación. Por ejemplo, un sujeto puede no haber respondido al tratamiento con azacitidina antes de la administración de una composición de Dactinomicina de la divulgación. Los sujetos de la divulgación pueden haber recaído después de una o más terapias contra el cáncer antes de la administración de una composición de Dactinomicina de la divulgación.

De acuerdo con la divulgación, la Dactinomicina puede administrarse como una terapia de primera línea preferida, para sujetos que tienen AML recién diagnosticada y/o no tratada previamente que no son aptos para la quimioterapia intensiva o los ancianos (es decir, sujetos de 60 años de edad o más). Los sujetos que pueden no ser aptos para la quimioterapia intensiva incluyen, pero no se limitan a, sujetos que tienen un sistema inmunitario comprometido, un trastorno sanguíneo, un trastorno intestinal o una infección.

De acuerdo con la divulgación, un sujeto tratado con una composición de Dactinomicina puede entrar subsecuentemente en remisión. Como se usa en el presente documento, el término remisión incluye la remisión morfológica y/o molecular.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una tinción de May-Grunwald-Giemsa (MGG) del aspirado de médula ósea antes de la terapia con dactinomicina que muestra una infiltración marcada por blastos leucémicos (flechas).

La Figura 2 es una tinción con MGG del aspirado de médula ósea después de dos ciclos de dactinomicina que muestra hemopoyesis trilineal con características mielodisplásicas y menos del 5% de blastos leucémicos (remisión hematológica completa).

La Figura 3 es una tinción con hematoxilina y eosina de una muestra de biopsia de trefina de médula ósea antes del tratamiento que muestra una infiltración marcada por células leucémicas; El recuadro muestra los blastos con un aumento mayor.

La Figura 4 es una inmunotinción con anticuerpo monoclonal anti-NPM1 de trefina de médula ósea antes del tratamiento que muestra una fuerte expresión citoplasmática aberrante de nucleofosmina por las células leucémicas (detalles en recuadro). Las flechas indican células hematopoyéticas normales residuales ocasionales con positividad restringida al núcleo para NPM1.

La Figura 5 es una inmunotinción con anticuerpo monoclonal anti-NPM1 de trefina de médula ósea antes del tratamiento que muestra una fuerte expresión citoplasmática aberrante de nucleofosmina por células leucémicas (detalles en recuadro). Las flechas indican células hematopoyéticas normales residuales ocasionales con positividad restringida al núcleo para NPM1.

La Figura 6 es una inmunotinción con anticuerpo monoclonal anti-NPM1 de células hematopoyéticas normales después de dos ciclos de dactinomicina que muestran positividad restringida al núcleo para NPM1 (detalles en recuadro), con la excepción de las células en mitosis (flechas). El asterisco indica la tinción nuclear NPM1 de un megacariocito normal.

La Figura 7 es un ensayo cuantitativo de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) para copias mutantes de NPM1 en muestras de médula ósea que muestra una reducción progresiva en las copias durante el tratamiento con dactinomicina. La negatividad para la enfermedad residual mínima se logró después del cuarto ciclo. Los datos se presentan como el número de copias de NPM1 por 100 copias de Abl. El límite técnico de detección es 0.001 copias de NPM1 por 100 copias de Abl. Las flechas rojas indican cuándo se administraron los ciclos de dactinomicina. La remisión completa indica el momento en que se logró la respuesta hematológica (después de dos ciclos de dactinomicina).

Descripción detallada

La leucemia mieloide aguda (AML) mutada por NPM1 es una entidad de leucemia distinta que representa un tercio de los casos de AML en adultos. NPM1 es una proteína crucial para la integridad y función nucleolar normal. Debido a que contiene un bajo nivel de NPM1 no mutante (debido a la haploinsuficiencia y la retención citoplasmática de NPM1 no mutante por el mutante NPM1), el nucleolo de las células AML mutadas por NPM1 puede ser vulnerable a los fármacos que desencadenan una respuesta de estrés nucleolar. Se han descrito bien sea respuestas dependientes de p53 o independientes de p53 al estrés nucleolar. Es importante destacar que la respuesta al estrés nucleolar mediada por p53 se retiene en la AML mutada por NPM1 porque las células de AML mutadas por NPM1 carecen de mutaciones o deleciones de p53.

Entre los fármacos potencialmente activos, la divulgación se centra en la dactinomicina porque induce estrés nucleolar al interferir con la biogénesis de los ribosomas a través de la inhibición de la ARN polimerasa I. La Dactinomicina es activa en el tumor de Wilms y algunos otros tumores, sin embargo, la divulgación describe el primer estudio sobre el uso de dactinomicina en AML.

Leucemia mieloide aguda (AML)

La leucemia mieloide aguda (AML) es el nombre más común para una afección que alternativamente se conoce como leucemia mielocítica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia granulocítica aguda o leucemia no linfocítica aguda.

La AML se desarrolla inicialmente en la médula ósea, sin embargo, las células de la AML progresan rápidamente hacia la sangre. Una vez presente en la sangre de un sujeto, las células cancerosas pueden diseminarse a todas las partes

del cuerpo, incluidos, pero no limitados a, los nodos linfáticos, el hígado, el bazo, el sistema nervioso central (cerebro y/o médula espinal), cutis y testículos

5 Como una forma aguda de leucemia, las células cancerosas son células sanguíneas inmaduras con cualidades similares a las células madre que, bajo condiciones normales, se dividen rápidamente para proporcionar un número de tipos de células sanguíneas. Cuando estas células experimentan una transformación oncogénica, esta división rápida produce células cancerosas a un ritmo más rápido que un cáncer que afecta a un tipo celular maduro y/o terminalmente diferenciado.

10 Como una forma de leucemia mielóide, las células cancerosas se transforman a partir de células mieloides tipo madre que, bajo condiciones normales, se dividen para generar células que se diferencian en glóbulos rojos, glóbulos blancos y megacariocitos que generan plaquetas. Cuando estas células experimentan una transformación oncogénica, las células mieloides inmaduras se dividen rápidamente sin producir subsecuentemente los números y/o proporciones de glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas que normalmente deberían poblar la sangre circulante. En consecuencia, bajo condiciones oncogénicas, las células mieloides se dividen y se agregan en los huesos, lo que aumenta la producción de estas células que compiten por los recursos e interrumpen la función normal de las células sanas, no cancerosas, en la médula ósea. Además, bajo condiciones oncogénicas, las células mieloides producen una cantidad insuficiente de glóbulos rojos para transportar niveles normales de oxígeno a través de la sangre a uno o más órganos, una cantidad insuficiente de glóbulos blancos para montar una respuesta inmune adecuada a la infección y/o cantidad insuficiente de plaquetas para facilitar la coagulación de la sangre.

20 Los sujetos de la divulgación pueden presentar uno o más factores de riesgo para desarrollar AML. Los factores de riesgo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, antecedentes personales y/o familiares de cáncer, aumento de la edad, ser hombre, tratamiento previo con quimioterapia y/o radiación, exposición a la radiación (incluidos los sobrevivientes de accidentes de reactores nucleares), exposición a productos químicos peligrosos (incluido, por ejemplo, benceno), hábito de fumar pasado o actual, exposición al humo de segunda mano, antecedentes personales de otros trastornos sanguíneos (que incluyen, por ejemplo, mielodisplasia, policitemia vera y/o trombocitemia), trastornos genéticos (que incluyen, por ejemplo, síndrome de Down). Aunque los sujetos de la divulgación pueden ser de cualquier género, los sujetos genéticamente masculinos tienen un mayor riesgo de desarrollar AML en comparación con aquellos sujetos genéticamente femeninos. Aunque los sujetos de la divulgación pueden ser de cualquier edad, los sujetos que tienen al menos 40, al menos 50, al menos 60, al menos 70, al menos 80 o al menos 90 tienen un mayor riesgo de desarrollar AML en comparación con los sujetos más jóvenes.

30 Los sujetos de la divulgación pueden presentar uno o más signos o síntomas de AML, que incluyen, pero no se limitan a, fiebre, dolor óseo, letargo y/o fatiga, falta de aliento, piel pálida, infecciones frecuentes, moretones con facilidad, sangrado inusual (de, por ejemplo, nariz y encías, y/o coagulación sanguínea disminuida o insuficiente).

35 Como se usa aquí, el término "síntoma" se define como una indicación de enfermedad, padecimiento, lesión o que algo no está bien en el cuerpo. Los síntomas son sentidos o notados por el individuo que experimenta el síntoma, pero otros no pueden notarlos fácilmente. Otros se definen como profesionales no sanitarios.

Como se usa aquí, el término "signo" también se define como una indicación de que algo no está bien en el cuerpo. Pero los signos se definen como cosas que puede ver un médico, una enfermera u otro profesional de la salud.

40 De acuerdo con la divulgación, la Dactinomicina puede administrarse como una terapia de primera línea preferida, para sujetos con AML recién diagnosticada y/o no tratada previamente que no son aptos para la quimioterapia intensiva o los ancianos (es decir, sujetos de 60 años de edad o más). Los sujetos que pueden no ser aptos para la quimioterapia intensiva incluyen, pero no se limitan a, sujetos que tienen un sistema inmunitario comprometido, un trastorno sanguíneo, un trastorno intestinal o una infección.

45 Los sujetos de la divulgación pueden haber sido tratados para AML con otra terapia y pueden haber sido resistentes a esa terapia o no haber mostrado ninguna mejora como resultado de esa terapia. Por lo tanto, los sujetos de la divulgación incluyen aquellos individuos que han fallado una o más terapias antes del tratamiento con dactinomicina de acuerdo con los métodos de la divulgación.

50 El tratamiento de la AML puede dar como resultado una remisión hematológica parcial o completa. Una remisión hematológica completa se define como una reducción de las células leucémicas a <5% de las células de la médula ósea en el examen morfológico de frotis y/o secciones de médula ósea. Una remisión hematológica parcial se define como una reducción de las células leucémicas a > 5%, pero menos de un porcentaje inicial de células de médula ósea, determinado por un examen morfológico de frotis y/o secciones de médula ósea. El porcentaje inicial de células leucémicas entre las células de la médula ósea puede determinarse en el momento del diagnóstico y/o el inicio del tratamiento. Se puede determinar una reducción de ese porcentaje inicial en cualquier momento durante o después de la finalización del tratamiento.

55 Además, el tratamiento de la AML puede dar como resultado una disminución en el tamaño de un área o zona de proliferación celular y, en particular, una masa leucémica extramedular. Preferiblemente, después del tratamiento, el tamaño de un área o zona de proliferación celular se reduce al menos en un 5% con respecto a su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, reducido en al menos 10%; más preferiblemente, reducido en al menos 20%; más

preferiblemente, reducido en al menos 30%; más preferiblemente, reducido al menos en un 40%; más preferiblemente, reducido al menos en un 50%; incluso más preferiblemente, reducido al menos en un 50%; y lo más preferiblemente, reducido al menos en un 75%. El tamaño de un área o zona de proliferación celular puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. El tamaño de un área o zona de proliferación celular puede medirse como un diámetro o ancho de un área o zona de proliferación celular.

El tratamiento de la AML puede dar como resultado una disminución en el número o la proporción de células que tienen una apariencia o morfología anormales (es decir, regresión morfológica). Preferiblemente, después del tratamiento, el número de células que tienen una morfología anormal se reduce al menos en un 5% con respecto a su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, reducido en al menos 10%; más preferiblemente, reducido en al menos 20%; más preferiblemente, reducido en al menos 30%; más preferiblemente, reducido al menos en un 40%; más preferiblemente, reducido al menos en un 50%; incluso más preferiblemente, reducido al menos en un 50%; y lo más preferiblemente, reducido al menos en un 75%. Una apariencia celular o morfología celular anormal puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. Se puede medir una morfología celular anormal por microscopía, por ejemplo, usando un microscopio de cultivo de tejido invertido. Una morfología celular anormal puede tomar la forma de pleiomorfismo nuclear.

Como se usa en el presente documento, el término "selectivamente" significa que tiende a ocurrir con mayor frecuencia en una población que en otra población. Las poblaciones comparadas pueden ser poblaciones celulares. Preferiblemente, una composición de dactinomicina de la divulgación actúa selectivamente sobre un cáncer o una célula precancerosa pero no sobre una célula normal. Preferiblemente, una composición de dactinomicina de la divulgación actúa selectivamente para modular una diana molecular (por ejemplo, alargamiento de la cadena de ARN/ADN al inhibir la biogénesis del ribosoma) pero no modula significativamente otro objetivo molecular (por ejemplo, una enzima de reparación celular). Preferiblemente, un evento ocurre selectivamente en la población A en relación con la población B si ocurre más de dos veces más frecuentemente en la población A en comparación con la población B. Un evento ocurre selectivamente si ocurre más de cinco veces más frecuentemente en la población A; más preferiblemente, más de cincuenta veces; incluso más preferiblemente, más de 100 veces; y más preferiblemente, más de 1000 veces más frecuentemente en la población A en comparación con la población B. Por ejemplo, se diría que la muerte celular ocurre selectivamente en las células cancerosas si ocurre más del doble de frecuencia en las células cancerosas que en las células normales.

Una composición de dactinomicina de la divulgación puede modular la actividad de una diana molecular (por ejemplo, un ribosoma). La modulación se refiere a estimular o inhibir una actividad de una diana molecular. Preferiblemente, una composición de dactinomicina de la divulgación modula la actividad de una diana molecular si estimula o inhibe la actividad de la diana molecular en al menos 2 veces en relación con la actividad de la diana molecular bajo las mismas condiciones pero careciendo solo de la presencia de dicho compuesto. Más preferiblemente, una composición de dactinomicina de la divulgación modula la actividad de una diana molecular si estimula o inhibe la actividad de la diana molecular en al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 20 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces en relación con la actividad de la diana molecular bajo las mismas condiciones pero careciendo solo de la presencia de dicho compuesto. La actividad de una diana molecular puede medirse por cualquier medio reproducible. La actividad de una diana molecular puede medirse in vitro o in vivo. Por ejemplo, la actividad de una diana molecular puede medirse in vitro mediante un ensayo de actividad enzimática o un ensayo de unión al ADN, o la actividad de una diana molecular puede medirse in vivo analizando la expresión de un gen informador.

Dactomicina

La dactomicina también puede denominarse como 2-amino-N,N'-bis(hexadecahidro-2,5,9-trimetil-6,13-bis(1-metiletil)-1,4,7,11,14-pentaoxo-1H-pirrol(2,1-1)(1,4,7,10,13)oxatetra-azaciclohexadecin-10-il)-4,6-dimetil-3-oxo-3H-fenoxazina-1,9-dicarboxamida, ActD, Actinomicina C1, Actinomicina D; Actinomicina iv, Dactinomicina, Dactinomycin, Dactinomicyne, Dactinomycinium o Meractinomicina. La dactomicina pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como depsipéptidos cíclicos. Los depsipéptidos cíclicos incluyen compuestos naturales y/o no naturales (es decir, sintéticos) que tienen secuencias de residuos de ácido amino e hidroxicarboxílicos (usualmente ácidos α -amino y α -hidroxiácidos) conectados en un anillo. Los residuos de ácido amino e hidroxicarboxílico dentro de Dactomicina pueden alternarse en un patrón repetitivo.

La dactomicina es una molécula pequeña compuesta por dos péptidos cíclicos unidos a una fenoxazina que se deriva de *Streptomyces parvullus*. La dactomicina se une al ADN e inhibe la síntesis (transcripción) de ARN al interferir específicamente con el alargamiento de la cadena de los transcritos de ARNm. La dactomicina se une fuertemente pero reversiblemente a las moléculas de ADN. Como resultado de la producción alterada de ARNm, la síntesis de proteínas, la biogénesis de ribosomas y la división celular disminuyen después de la terapia con dactinomicina. Debido a que la Dactomicina inhibe la división celular, se presume que la Dactomicina inhibe la división celular oncogénica presente con AML en la médula ósea.

Formulaciones farmacéuticas

La divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden Dactinomicina en combinación con al menos un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

- Una "composición farmacéutica" es una formulación que contiene una composición de Dactinomicina de la divulgación en una forma adecuada para la administración a un sujeto. En una realización, la composición farmacéutica es a granel o en forma de dosificación unitaria. La forma de dosificación unitaria es cualquiera de una variedad de formas, que incluyen, por ejemplo, una cápsula, una bolsa IV, una tableta, una bomba individual en un inhalador de aerosol o un vial. La cantidad de ingrediente activo (por ejemplo, una formulación del compuesto o sal divulgada, hidrato, solvato o isómero del mismo) en una dosis unitaria de composición es una cantidad efectiva y varía de acuerdo con el tratamiento particular involucrado. Un experto en la técnica apreciará que a veces es necesario realizar variaciones de rutina en la dosificación dependiendo de la edad y la condición del paciente. La dosificación también dependerá de la ruta de administración. Aunque las composiciones de la divulgación pueden administrarse por cualquier ruta, las rutas de administración preferidas incluyen inyección o infusión intravenosa. En una realización, el compuesto activo se mezcla bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, regulador o propelente que se requiera.
- Como se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones, portadores y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, conmensurado con una relación beneficio/riesgo razonable.
- "Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y no es indeseable biológicamente o de alguna otra manera, e incluye un excipiente que es aceptable para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" tal como se usa en la especificación y las reivindicaciones incluye tanto uno y más de uno de tal excipiente.
- Una composición farmacéutica de la divulgación está formulada para ser compatible con su ruta de administración prevista. Ejemplos de rutas de administración incluyen la administración intravenosa. Las soluciones o suspensiones utilizadas para la aplicación intravenosa pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; reguladores tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como el ácido clorhídrico o el hidróxido de sodio. La preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples de vidrio o plástico.
- Una composición de Dactinomicina de la divulgación se puede administrar a un sujeto en muchos de los métodos conocidos actualmente usados para el tratamiento quimioterapéutico. Por ejemplo, para el tratamiento de cánceres, se puede inyectar una composición de Dactinomicina de la divulgación en el torrente sanguíneo. La dosis seleccionada debe ser suficiente para constituir un tratamiento efectivo, pero no tan alta como para causar efectos colaterales inaceptables. El estado de la enfermedad (por ejemplo, cáncer, precáncer y similares) y la salud del paciente se deben monitorizar de cerca durante y por un período razonable después del tratamiento.
- El término "cantidad terapéuticamente efectiva", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de una composición de Dactinomicina para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección identificada, o para exhibir un efecto terapéutico o inhibidor detectable. El efecto puede detectarse mediante cualquier método de ensayo conocido en la técnica. La cantidad efectiva precisa para un sujeto dependerá del peso corporal, el tamaño y la salud del sujeto; la naturaleza y extensión de la condición; y la terapéutica o combinación de terapias seleccionadas para la administración. Las cantidades terapéuticamente efectivas para una situación dada pueden determinarse mediante experimentación de rutina que está dentro de la habilidad y el criterio del internista. En un aspecto preferido, la enfermedad o afección que se va a tratar es cáncer. En un aspecto preferido, la enfermedad o afección que se va a tratar es la AML.
- Para cualquier composición de la divulgación, la cantidad terapéuticamente efectiva puede estimarse inicialmente bien sea en ensayos de cultivo celular, por ejemplo, de células neoplásicas o en modelos animales, usualmente ratas, ratones, conejos, perros o cerdos. El modelo animal también puede usarse para determinar el rango de concentración apropiado y la ruta de administración. Tal información se puede utilizar entonces para determinar dosis y rutas útiles para la administración en humanos. La eficacia terapéutica/profiláctica y la toxicidad pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, ED₅₀ (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población) y LD₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, y se puede expresar como la relación, LD₅₀/ED₅₀. Se prefieren las composiciones farmacéuticas que exhiben grandes índices terapéuticos. La dosificación puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada, la sensibilidad del paciente y la ruta de administración.

La dosificación y la administración se ajustan para proporcionar niveles suficientes de los agentes activos o para mantener el efecto deseado. Los factores que pueden tenerse en cuenta incluyen la gravedad del estado de la enfermedad, la salud general del sujeto, la edad, el peso y el género del sujeto, la dieta, el tiempo y la frecuencia de administración, la combinación de fármacos, la sensibilidad a la reacción y la tolerancia/respuesta a la terapia. Las composiciones farmacéuticas de acción prolongada pueden administrarse cada 3 a 4 días, cada semana o una vez cada dos semanas, dependiendo de la vida media y la tasa de eliminación de la formulación particular.

Las composiciones farmacéuticas que contienen compuestos de Dactinomicina activos de la divulgación pueden fabricarse de una manera generalmente conocida, por ejemplo, mediante procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de manera convencional usando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables que comprenden excipientes y/o auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. Por supuesto, la formulación apropiada depende de la ruta de administración seleccionada.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (donde son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los portadores adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina regulada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debería ser fluida en la medida en que exista una fácil manipulación con jeringa. Debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un solvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. Se puede mantener la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede lograrse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando la composición de Dactinomicina en la cantidad requerida en un solvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización filtrada. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto de Dactinomicina activo en un vehículo estéril que contenga un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son secado al vacío y secados por congelación que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución previamente filtrada estéril del mismo.

Los compuestos activos se pueden preparar con vehículos farmacéuticamente aceptables que protegerán el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como acetato de etileno y vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Los materiales también se pueden obtener comercialmente de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Las suspensiones liposomales (incluidos los liposomas direccionados a células infectadas con anticuerpos monoclonales contra antígenos virales) también se pueden usar como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, como se describe en la patente U.S. No. 4,522,811.

Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto que se va a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación de las formas unitarias de dosificación de la divulgación está dictada por y depende directamente de las características únicas del compuesto activo y del efecto terapéutico particular que se va a lograr.

En aplicaciones terapéuticas, las dosificaciones de las composiciones farmacéuticas utilizadas de acuerdo con la divulgación varían dependiendo del agente, la edad, el peso y el estado clínico del paciente receptor, y la experiencia y el criterio del médico o profesional que administra la terapia, entre otros factores que afectan la dosificación seleccionada. En general, la dosis debería ser suficiente para ralentizar, y preferiblemente retroceder, el crecimiento de los tumores y también preferiblemente causar una regresión completa del cáncer. Las dosificaciones pueden variar de aproximadamente 1 µg/kg por día a aproximadamente 30 µg/kg por día en dosis únicas, divididas o continuas (dosis que pueden ajustarse para el peso del paciente en kg, el área de superficie corporal en m² y la edad en años). Una

cantidad efectiva de un agente farmacéutico es la que proporciona una mejora objetivamente identificable según lo observado por el médico u otro observador calificado. Por ejemplo, la regresión de un tumor en un paciente puede medirse con referencia al diámetro de un tumor. La disminución en el diámetro de un tumor indica regresión. La regresión también está indicada por la incapacidad de que los tumores vuelvan a aparecer después de que el tratamiento se haya detenido. Como se usa en el presente documento, el término "forma efectiva de dosificación" se refiere a la cantidad de un compuesto activo para producir el efecto biológico deseado en un sujeto o célula.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un recipiente, paquete o dispensador junto con instrucciones para la administración.

Los compuestos de la presente divulgación son capaces de formar sales adicionales. Todos estas formas también se contemplan dentro del alcance de la divulgación reivindicada.

Como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a derivados de los compuestos de la divulgación en los que el compuesto original se modifica haciendo sales de ácido o base del mismo. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas, sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o sales de amonio cuaternario del compuesto original formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales no tóxicas convencionales incluyen, pero no se limitan a, aquellas derivadas de ácidos inorgánicos y orgánicos seleccionados de 2-acetoxibenzoico, 2-hidroxiacetosulfónico, acético, ascórbico, benzenosulfónico, benzoico, bicarbonico, carbónico, cítrico, edético, etano disulfónico, 1,2-etano sulfónico, fumárico, glucoheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, glicolirsanfílico, hexilresorcínico, hidrabámico, hidrobrómico, clorhídrico, hidroyódico, hidroximaleico, hidroxinaftoico, isetiónico, láctico, lactobiónico, laurilsulfónico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, napsílico, nítrico, oxálico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, poligalacturónico, propiónico, salicíclico esteárico subacético, succínico, sulfámico, sulfanílico, sulfúrico, tánico, tartárico, toluenosulfónico y los ácidos de amina que se presentan comúnmente, por ejemplo, glicina, alanina, fenilalanina, arginina, etc.

Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen ácido hexanoico, ácido ciclopentano propiónico, ácido pirúvico, ácido malónico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido 4-clorobenzenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-metilbencilo-[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido mucónico y similares. La divulgación también abarca sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original se reemplaza por un ion metálico, por ejemplo, un ion de metal alcalino, un ion alcalino-térreo o un ion de aluminio; o coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina y similares.

Debe entenderse que todas las referencias a sales farmacéuticamente aceptables incluyen formas de adición de solventes (solvatos) o formas cristalinas (polimorfos) como se definen en el presente documento, de la misma sal.

Los compuestos de la divulgación también se pueden preparar como ésteres, por ejemplo, ésteres farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, un grupo de función de ácido carboxílico en un compuesto puede convertirse en su éster correspondiente, por ejemplo, un metilo, etilo u otro éster. Además, un grupo alcohol en un compuesto puede convertirse en su éster correspondiente, por ejemplo, un acetato, propionato u otro éster.

Los compuestos de la divulgación también se pueden preparar como profármacos, por ejemplo, profármacos farmacéuticamente aceptables. Los términos "pro-fármaco" y "profármaco" se usan indistintamente en el presente documento y se refieren a cualquier compuesto que libera un fármaco original activo in vivo. Dado que se sabe que los profármacos potencian numerosas cualidades deseables de los productos farmacéuticos (por ejemplo, solubilidad, biodisponibilidad, fabricación, etc.), los compuestos de la divulgación pueden suministrarse en forma de profármaco. Por lo tanto, la divulgación está destinada a cubrir los profármacos de los compuestos reivindicados actualmente, los métodos para administrar los mismos y las composiciones que contienen los mismos. Se pretende que los "profármacos" incluyan cualquier portador unido covalentemente que libere un fármaco original activo de la divulgación in vivo cuando tal profármaco se administra a un sujeto. Los profármacos en la divulgación se preparan modificando grupos funcionales presentes en el compuesto de tal manera que las modificaciones se escinden, ya sea en manipulación rutinaria o in vivo, al compuesto original. Los profármacos incluyen compuestos de la divulgación en la que un grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo, carboxilo o carbonilo está unido a cualquier grupo que puede escindirse in vivo para formar un grupo hidroxilo libre, amino libre, sulfhidrilo libre, carboxilo libre o carbonilo libre, respectivamente.

Ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, ésteres (por ejemplo, derivados de acetato, dialquilaminoacetatos, formiatos, fosfatos, sulfatos y benzoato) y carbamatos (por ejemplo, N,N-dimetilaminocarbonilo) de grupos funcionales hidroxilo, ésteres (por ejemplo, ésteres etílicos, ésteres de morfolinoetanol) de grupos funcionales carboxilo, derivados de N-acilo (por ejemplo, N-acetil) bases de N-Mannich, bases de Schiff y enamionas de grupos funcionales amino, ésteres de oximas, acetales, cetales y enol de grupos funcionales cetona y aldehído en compuestos de la divulgación, y similares, véase Bundegaard, H., Design of Prodrugs, p1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985).

Los compuestos, o sus sales, ésteres o profármacos farmacéuticamente aceptables, se administran por vía oral, nasal, transdérmica, pulmonar, inhalatoria, bucal, sublingual, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intravenosa, rectal,

intrapleural, intratecal y parenteral. En una realización, el compuesto se administra por vía oral. Un experto en la técnica reconocerá las ventajas de ciertas rutas de administración.

5 El régimen de dosificación que utiliza los compuestos se selecciona de acuerdo con una variedad de factores que incluyen tipo, especie, edad, peso, sexo y condición médica del paciente; la severidad de la condición que va a ser tratada; la ruta de administración; la función renal y hepática del paciente; y el compuesto particular o sal del mismo empleado. Un médico o veterinario con experiencia normal puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad efectiva del fármaco requerida para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección.

10 El régimen de dosificación puede ser la administración diaria (por ejemplo, cada 24 horas) de un compuesto de la divulgación. El régimen de dosificación puede ser administración diaria durante días consecutivos, por ejemplo, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis o al menos siete días consecutivos. La dosificación puede ser más de una vez al día, por ejemplo, dos, tres o cuatro veces al día (por un período de 24 horas). El régimen de dosificación puede ser una administración diaria seguida de al menos un día, al menos dos días, al menos tres días, al menos cuatro días, al menos cinco días o al menos seis días, sin administración. Por ejemplo, un compuesto de la divulgación se administra al menos una vez en un período de 24 horas, luego un compuesto de la divulgación no se administra durante al menos seis días, luego se administra un compuesto de la divulgación a un sujeto que lo necesite.

15 Las técnicas para la formulación y administración de los compuestos divulgados de la divulgación se pueden encontrar en Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 19a edición, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995). En una realización, los compuestos descritos en el presente documento, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se usan en preparaciones farmacéuticas en combinación con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los portadores farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen agentes de relleno o diluyentes sólidos inertes y soluciones acuosas u orgánicas estériles. Los compuestos estarán presentes en tales composiciones farmacéuticas en cantidades suficientes para proporcionar la cantidad de dosificación deseada en el rango descrito aquí.

20 Todos los porcentajes y relaciones utilizados aquí, a menos que se indique otra cosa, son en peso. Otras características y ventajas de la divulgación son evidentes a partir de los diferentes ejemplos. Los ejemplos proporcionados ilustran diferentes componentes y metodologías útiles en la práctica de la divulgación. Los ejemplos no limitan la invención reivindicada. Con base en la presente divulgación, el experto en la técnica puede identificar y emplear otros componentes y metodología útiles para practicar la divulgación.

30 Ejemplos

con el fin de que la divulgación divulgada en este documento pueda entenderse de manera más eficiente, a continuación se proporcionan ejemplos. Debe entenderse que estos ejemplos son solo para fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes de la divulgación de ninguna manera.

Ejemplo 1: tratamiento con Dactinomicina de leucemia mieloide aguda mutada por NPM1

35 Un paciente de 60 años de edad con AML mutada por NPM1 sin mutaciones de duplicación en tándem interno de FLT3 fue tratado con dactinomicina. Debido a que la dactinomicina carece de cardiotoxicidad, se seleccionó un paciente para quien la quimioterapia intensiva no era apropiada debido a una fracción de eyección ventricular izquierda baja (35%). La leucemia había progresado después de un ciclo único inicial de azacitidina. Por lo tanto, con el consentimiento del paciente, la dactinomicina se administró como un agente único sin autorización (aprobado por la junta de revisión institucional en el Perugia Hospital), a una dosis de 12.5 µg por kilogramo de peso corporal por día durante 5 días consecutivos, según lo recomendado para tumores trofoblásticos gestacionales de bajo riesgo. La remisión completa morfológica e inmunohistoquímica se logró después de dos ciclos de terapia (Figuras 1-6). Se administraron cuatro ciclos más durante un total de seis ciclos, a intervalos de 3 a 4 semanas. Un ensayo cuantitativo de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa para copias mutantes de NPM1 mostró una remisión molecular completa después del cuarto ciclo (Figura 7). El paciente ahora ha tenido una remisión completa morfológica y molecular que duró 14 meses. Los eventos adversos incluyeron neutropenia febril y trombocitopenia de grado 4 durante los ciclos 1 y 2 (Tabla 1), mucositis oral de grado 2 durante los ciclos 1 a 3 y erosiones superficiales de la piel durante el ciclo 2. Los ciclos 3 a 6 se administraron de forma ambulatoria, sin necesidad de transfusiones de sangre (tabla 1).

50 La disminución progresiva en las transcripciones mutantes por NPM1 (hasta el logro de la negatividad para la enfermedad residual mínima) recuerda la normalización inducida por dactinomicina de los niveles séricos de gonadotropina coriónica humana en pacientes con tumores trofoblásticos gestacionales.

55 Seis pacientes adicionales con AML mutada por NPM1 refractaria o recidivante fueron tratados con ciclos de dactinomicina a una dosis de 15.0 µg por kilogramo por día durante 5 días consecutivos. Se logró una remisión hematológica completa en dos pacientes: uno (74 años) no había respondido a la azacitidina y otro (72 años) había tenido una recaída después de múltiples líneas de quimioterapia.

5 La tabla 1 muestra los efectos tóxicos hematológicos durante el tratamiento con dactinomicina. El número de días con un nivel de hemoglobina de menos de 8 g por decilitro, trombocitopenia severa (un recuento de plaquetas de <20,000 por milímetro cúbico) y neutropenia severa (un recuento de neutrófilos de <500 por milímetro cúbico) se informan para los ciclos 1 a 6. Se transfundieron un total de 8 unidades de glóbulos rojos y 4 unidades de plaquetas durante el ciclo 1, y se transfundieron 4 unidades de glóbulos rojos y 1 unidad de plaquetas durante el ciclo 2. No fueron necesarias transfusiones de glóbulos rojos o plaquetas después del ciclo 2 .

Tabla 1.

Número de días con:			
Ciclo Act D	Hb <8 g/dl	PLT <20000/mm ³	PMN <500/mm ³
1*	3	13	26
2**	3	2	6
3	0	0	4
4	0	0	4
5	0	0	4
6	0	0	3
* 8 RBC y transfusiones de 4 unidades de PLT			
** 4 RBC y transfusiones de 1 unidad de PLT			

Referencias

10 1. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *N Engl J Med* 2005; 352:254-66.

2. Falini B, Gionfriddo I, Cecchetti F, Ballanti S, Pettrossi V, Martelli MP. Acute myeloid leukemia with mutated nucleophosmin (NPM1): any hope for a targeted therapy? *Blood Rev* 2011; 25:247-54.

15 3. Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2013; 368:2059-74.

4. Burger K, Mühl B, Harasim T, et al. Chemotherapeutic drugs inhibit ribosome biogenesis at various levels. *J Biol Chem* 2010; 285:12416-25.

5. Osathanondh R, Goldstein DP, Pastorfide GB. Actinomycin D as the primary agent for gestational trophoblastic disease. *Cancer* 1975; 36:863-6.

20

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende Dactinomicina para uso en un método de tratamiento de leucemia mieloide aguda (AML) en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición.
- 5 2. La composición para uso de la reivindicación 1, en la que la AML es AML mutada por NPM1.
3. La composición para uso de la reivindicación 1 o 2, en la que la composición comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.
4. La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición está entre 1 y 30 µg/kg/día o entre 10 y 20 µg/kg/día, incluidos los puntos finales.
- 10 5. La composición para uso de la reivindicación 4, en la que una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición es aproximadamente 15 µg/kg/día o aproximadamente 12.5 µg/kg/día.
6. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que se administra una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición una vez al día.
- 15 7. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que se administra una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición durante al menos un ciclo, durante al menos dos ciclos o durante seis ciclos.
8. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el al menos un ciclo comprende 5 días consecutivos de tratamiento.
- 20 9. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que un intervalo entre dos ciclos de tratamiento es al menos dos semanas o al menos cuatro semanas.
10. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el método comprende además administrar una transfusión de sangre al sujeto.
11. La composición para uso de la reivindicación 10, en la que la composición y la transfusión de sangre se administran simultáneamente.
- 25 12. La composición para uso de la reivindicación 10, en la que la composición y la transfusión de sangre se administran secuencialmente,
opcionalmente en la que la composición se administra antes de la transfusión de sangre,
además opcionalmente en la que la transfusión de sangre se administra después de al menos un ciclo de tratamiento con la composición.
- 30 13. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la composición se administra sistémicamente,
opcionalmente en la que la composición se administra por inyección intravenosa o infusión.
14. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el sujeto tiene al menos 50 años de edad, al menos 60 años de edad, o al menos 70 años de edad.
- 35 15. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el sujeto no respondió a otra terapia contra el cáncer antes de la administración de la composición,
opcionalmente en la que la otra terapia contra el cáncer comprende azacitidina, o en la que el sujeto recayó después de la otra terapia contra el cáncer.

FIGURA 1

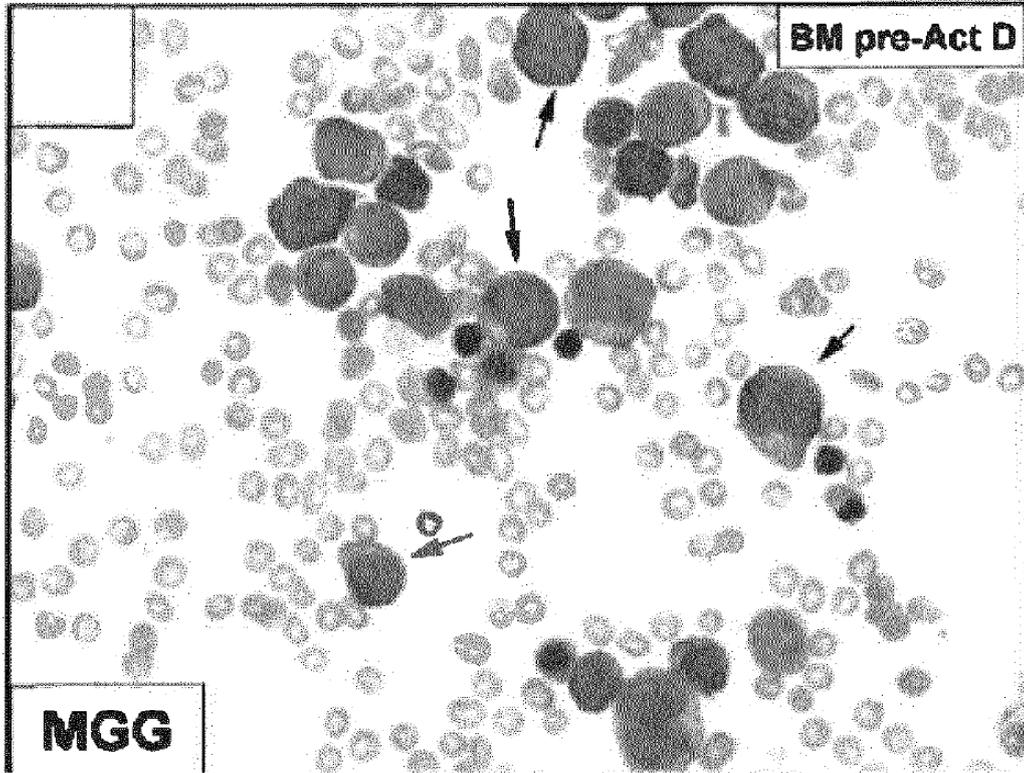


FIGURA 2

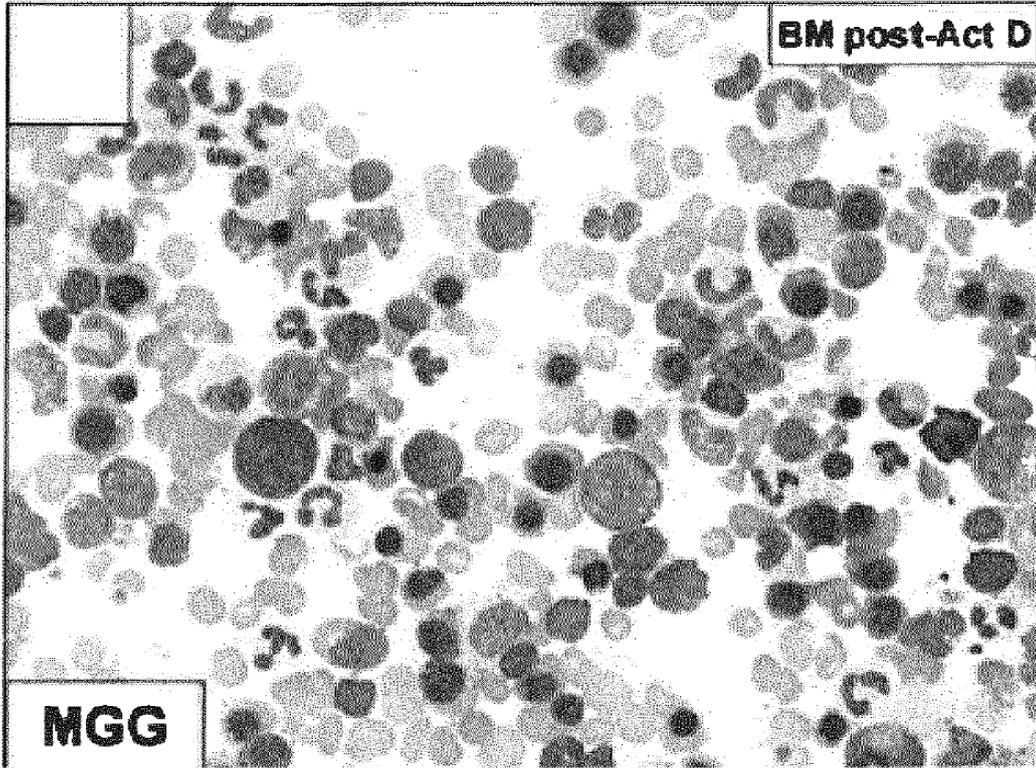


FIGURA 3

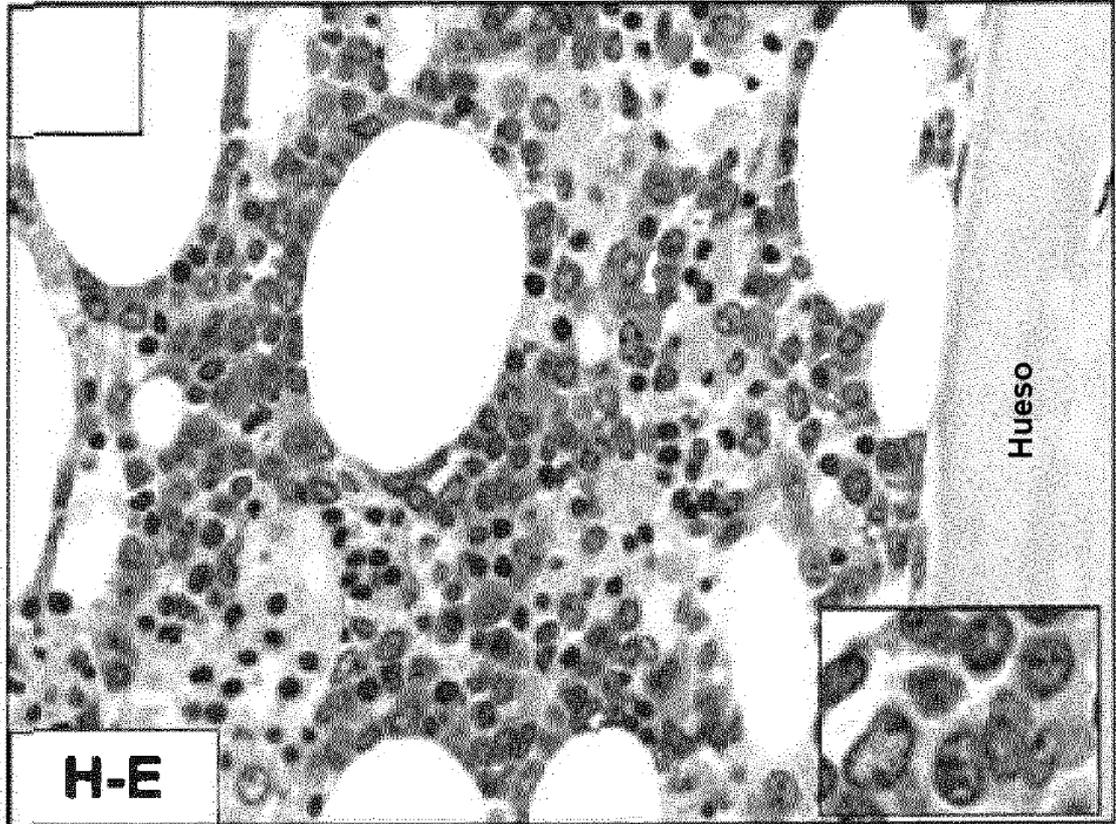


FIGURA 4

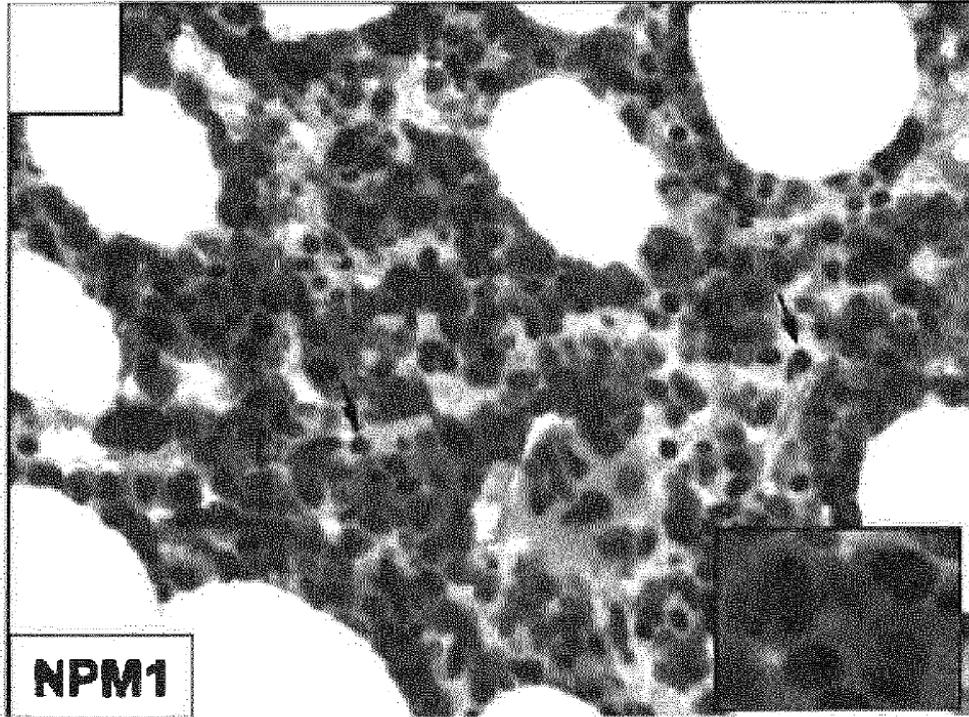


FIGURA 5

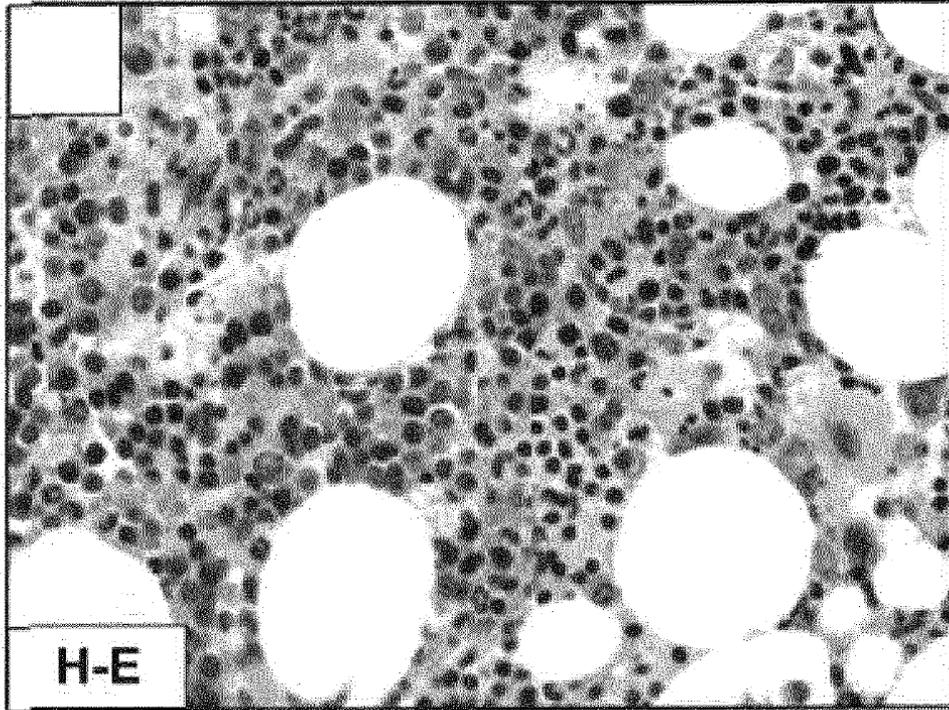


FIGURA 6

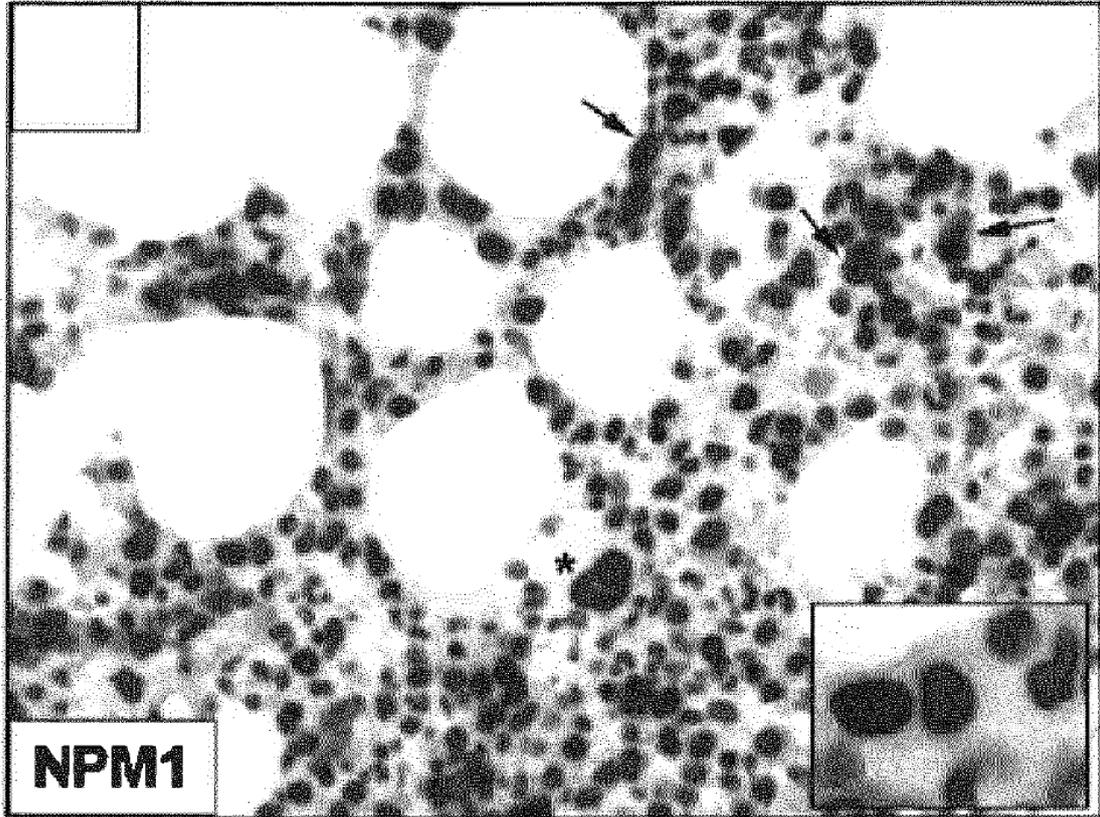


Figura 7

