

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 927 228**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4709 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2018** **E 19172562 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.06.2022** **EP 3542800**

54 Título: **Métodos de tratamiento del cáncer con inhibidores de farnesil transferasa**

30 Prioridad:

21.02.2017 US 201762461602 P

17.05.2017 US 201762507749 P

14.06.2017 US 201762519819 P

21.11.2017 US 201715820157

21.11.2017 US 201715820012

08.12.2017 US 201762596653 P

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

03.11.2022

73 Titular/es:

KURA ONCOLOGY, INC. (100.0%)
12730 High Bluff Drive, Suite 400
San Diego, CA 92130, US

72 Inventor/es:

GUALBERTO, ANTONIO y
SCHOLZ, CATHERINE ROSE

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 927 228 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

Métodos de tratamiento del cáncer con inhibidores de farnesil transferasa

Campo

- 5 La presente invención se refiere al campo de la terapia contra el cáncer. En particular, se proporciona tipifarnib para su uso en un método de tratamiento de un linfoma angioinmunoblástico de células T (AITL).

Antecedentes

La estratificación de poblaciones de pacientes para mejorar la tasa de respuesta terapéutica es cada vez más valiosa en el tratamiento clínico de pacientes con cáncer. Los inhibidores de farnesil transferasa (FTI) son agentes terapéuticos que tienen utilidad en el tratamiento de cánceres, tales como el linfoma periférico de células T ("PTCL").

- 10 Witzig et al. Blood 2011, vol. 118, páginas 4882-4889 se refieren a un estudio multi-institucional de fase 2 del inhibidor de la farnesil transferasa tipifarnib (R115777) en pacientes con linfomas en recaída y refractarios.

- 15 El documento WO 2017/184968 A1 se refiere a métodos para tratar el cáncer con un inhibidor de la farnesil transferasa (FTI), métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un paciente con cáncer a un tratamiento con FTI, métodos para seleccionar un paciente de cáncer para un tratamiento con FTI, métodos para estratificar pacientes de cáncer para un tratamiento con FTI, y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de cáncer a un tratamiento con FTI

Witzig et al., Blood 2017 vol. 130, página 2788 estudiaron la vía CXCL12/CXCR4 como una diana potencial de tipifarnib.

El documento US 2007/093449 A1 se refiere a nuevas formulaciones de tipifarnib, que son adecuadas para la administración intravenosa (IV).

- 20 Sin embargo, los pacientes responden de manera diferente a un tratamiento con FTI. Por lo tanto, los métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene cáncer a un tratamiento con FTI, o los métodos para seleccionar pacientes de cáncer para un tratamiento con FTI, representan necesidades insatisfechas. Los usos y composiciones proporcionados en el presente documento satisfacen estas necesidades y proporcionan otras ventajas relacionadas.

25 Compendio

- Se divulgan como referencia en el presente documento métodos para tratar el cáncer que expresa CXCL12 en un sujeto, que incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un FTI al sujeto que tiene un cáncer que expresa CXCL12. En el presente documento también se divulgan como referencia métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene cáncer para un tratamiento con FTI, métodos para seleccionar un paciente de cáncer para un tratamiento con FTI, métodos para estratificar pacientes de cáncer para un tratamiento con FTI y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de cáncer a un tratamiento con FTI. En algunos ejemplos, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene cáncer para determinar que el sujeto tiene cáncer que expresa CXCL12 antes de administrar el FTI al sujeto. En algunos ejemplos, el FTI es tipifarnib. En ejemplos específicos, el cáncer es carcinoma nasofaríngeo, carcinoma nasofaríngeo asociado a EBV, 30 cáncer de esófago, cáncer de ovario, sarcoma, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de páncreas localmente avanzado, cáncer hematológico, linfoma, linfoma cutáneo de células T (CTCL), leucemia, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfoblástica aguda de células T (T-ALL) o leucemia mielógena crónica (CML).

En una realización, el método comprende administrar tipifarnib antes, durante o después de irradiación.

- 40 En una realización, el método comprende además administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un segundo agente activo o una terapia asistencial de apoyo.

En el contexto de la presente invención, el FTI es tipifarnib. Otros FTI se divulgan en el presente documento como referencia.

En el contexto de la presente invención, la enfermedad a tratar es AITL. Otras enfermedades se divulgan en el presente documento como referencia.

- 45 En algunas realizaciones, los métodos son para el tratamiento de AITL que expresa CXCL12 en un sujeto, donde el método incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto que tiene una AITL que expresa CXCL12. En algunas realizaciones, los métodos también incluyen métodos para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene AITL al tratamiento con tipifarnib, métodos para seleccionar un paciente con AITL para tratamiento con tipifarnib, métodos para estratificar pacientes con AITL para un tratamiento con tipifarnib o 50 métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes con AITL a un tratamiento con tipifarnib. En algunos ejemplos, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene AITL para determinar que el sujeto tiene AITL que expresa CXCL12 antes de administrar el tipifarnib al sujeto. En realizaciones específicas,

la AITL es un AITL asociado a EBV.

Se divulgan como referencia en el presente documento métodos para tratar leucemia que expresa CXCL12 en un sujeto que incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un FTI a un sujeto que tiene una leucemia que expresa CXCL12. Se divulgan también como referencia métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene leucemia a un tratamiento con FTI, métodos para seleccionar un paciente de leucemia para un tratamiento con FTI, métodos para estratificar pacientes de leucemia para un tratamiento con FTI y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de leucemia para un tratamiento con FTI. En algunos ejemplos, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene leucemia para determinar que el sujeto tiene leucemia que expresa CXCL12 antes de administrar el FTI al sujeto. En algunos ejemplos, la leucemia es T-ALL. En ejemplos específicos, la leucemia es CML.

La presente invención proporciona tipifarnib para su uso en un método de tratamiento de un linfoma angioinmunoblástico de células T (AITL) en un sujeto.

En una realización, la AITL es un AITL en caída o refractario.

En una realización, el método comprende administrar selectivamente dicho tipifarnib al sujeto sobre la base de que el sujeto tiene un tumor de histología AITL. En una realización, la histología AITL se caracteriza por un componente de células tumorales, en el que opcionalmente el componente de células tumorales comprende células neoplásicas polimorfas de tamaño medio derivadas de células T auxiliares foliculares. En una realización, la histología de AITL se caracteriza por un componente de células no tumorales; opcionalmente en el que el componente de células no tumorales comprende vasos sanguíneos prominentes en forma de árbol; y/u opcionalmente en donde el componente de células no tumorales comprende proliferación de células dendríticas foliculares; y/u opcionalmente donde el componente de células no tumorales comprende blastos de células B positivos para EBV dispersos. En una realización, el sujeto que tiene AITL ha sido diagnosticado con AITL. En una realización, el diagnóstico con AITL comprende la visualización de un componente no tumoral; o el diagnóstico con AITL comprende la visualización de proliferación de vénulas endoteliales; o el diagnóstico con AITL comprende detectar la presencia de uno o más de los siguientes marcadores tumorales: CXCL13, CD10, PD1 y BCL6.

En una realización, el método comprende administrar dicho tipifarnib por vía oral, parenteral, rectal o tópica.

En una realización, el método comprende administrar dicho tipifarnib a una dosis de 0,001 mg a 2000 mg por kilogramo de peso corporal por día; o el método comprende administrar una forma farmacéutica unitaria que proporciona de 1 mg a 1000 mg o de 10 mg a 500 mg de dicho tipifarnib por forma de dosificación unitaria. En una realización, el método comprende administrar dicho tipifarnib a una dosis de 200 mg, 300 mg, 400 mg, 600 mg, 900 mg o 1200 mg dos veces al día. En una realización, el método comprende administrar dicho tipifarnib a una dosis de 200 mg, 300 mg, 400 mg, 600 mg o 900 mg dos veces al día. En una realización, el método comprende administrar dicho tipifarnib los días 1 a 7 y 15 a 21 de un ciclo de tratamiento de 28 días. En una realización, el método comprende administrar tipifarnib por vía oral a una dosis de 300 mg dos veces al día en los días 1 a 21 de un ciclo de tratamiento de 28 días.

En el presente documento se divulgan como referencia métodos para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) que expresa CXCL12 en un sujeto, incluyendo administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un FTI al sujeto que tiene una AML que expresa CXCL12. En el presente documento también se divulgan como referencia métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene AML para un tratamiento con FTI, métodos para seleccionar un paciente de AML para un tratamiento con FTI, métodos para estratificar pacientes de AML para un tratamiento con FTI y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de AML para un tratamiento con FTI. En algunos ejemplos, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene AML para determinar que el sujeto tiene AML que expresa CXCL12 antes de administrar el FTI al sujeto. En algunos ejemplos, el FTI es tipifarnib. En ejemplos específicos, la AML es una AML recién diagnosticada. En ejemplos específicos, el sujeto que tiene AML es un paciente de edad avanzada con AML de bajo riesgo. En ejemplos específicos, la AML es AML en recaída o refractaria.

La presente invención proporciona tipifarnib para su uso en un método para tratar el AITL en un sujeto, en donde el método incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, el método incluye métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene AITL a un tratamiento con tipifarnib, métodos para seleccionar un paciente de AITL para un tratamiento con tipifarnib, métodos para estratificar pacientes de AITL para un tratamiento con tipifarnib o métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de AITL para un tratamiento con tipifarnib. En algunas realizaciones, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene AITL para determinar que el sujeto tiene histología de AITL antes de administrar el tipifarnib al sujeto. En algunas realizaciones, la histología de AITL se caracteriza por un componente de células tumorales. En ciertas realizaciones, el componente de células tumorales comprende células neoplásicas polimorfas de tamaño medio derivadas de células T auxiliares foliculares. En algunas realizaciones, la histología de AITL se caracteriza por un componente de células no tumorales. En ciertas realizaciones, el componente de células no tumorales comprende vasos sanguíneos prominentes que arborizan. En ciertas realizaciones, el componente de células no tumorales comprende la proliferación de células dendríticas foliculares. En ciertas realizaciones, el componente de células no tumorales comprende blastos de células B positivos para EBV dispersos.

En ciertas realizaciones, el sujeto ha sido diagnosticado de AITL. En ciertas realizaciones, el diagnóstico de AITL comprende la visualización de un componente no tumoral. En ciertas realizaciones, el diagnóstico de AITL comprende la visualización de la proliferación de vénulas endoteliales. En ciertas realizaciones, el diagnóstico de AITL comprende detectar la presencia de uno o más de los siguientes marcadores tumorales: CXCL13, CD10, PD1 y BCL6. En algunas realizaciones, los métodos incluyen caracterizar la histología en una muestra de un sujeto que tiene linfoma y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el sujeto tiene una histología de AITL.

En el presente documento se divulga como referencia métodos para tratar el PTCL que expresa CXCL12 en un sujeto, que incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un FTI al sujeto que tiene un PTCL que expresa CXCL12. En el presente documento también se divulgan como referencia métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene PTCL para un tratamiento con FTI, métodos para seleccionar un paciente de PTCL para un tratamiento con FTI, métodos para estratificar pacientes de PTCL para un tratamiento con FTI y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de PTCL para un tratamiento con FTI. En algunos ejemplos, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene PTCL para determinar que el sujeto tiene PTCL que expresa CXCL12 antes de administrar el FTI al sujeto.

En algunos ejemplos, el FTI es tipifarnib. En algunos ejemplos, el PTCL es PTCL no especificado de otra manera (PTCL-NOS), linfoma anaplásico de células grandes (ALCL) - quinasa de linfoma anaplásico (ALK) positivo, ALCL - ALK negativo, linfoma de células T asociado a enteropatía, linfoma de células T extraganglionar de células asesinas naturales (NK) de tipo nasal, linfoma hepatoesplénico de células T o linfoma de células T subcutáneo de tipo paniculitis. En ejemplos específicos, el PTCL es PTCL-NOS.

En el presente documento se divulgan como referencia métodos para tratar el síndrome mielodisplásico (MDS) que expresa CXCL12 en un sujeto, que incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un FTI al sujeto que tiene MDS que expresa CXCL12. En el presente documento también se divulgan como referencia métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene MDS a un tratamiento con FTI, métodos para seleccionar un paciente de MDS para un tratamiento con FTI, métodos para estratificar pacientes de MDS para un tratamiento con FTI y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de MDS para un tratamiento con FTI. En algunos ejemplos, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene MDS para determinar que el sujeto tiene MDS que expresa CXCL12 antes de administrar el FTI al sujeto. En algunos ejemplos, el FTI es tipifarnib.

En el presente documento se divulgan como referencia métodos para tratar la mielofibrosis que expresa CXCL12 en un sujeto, que incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un FTI al sujeto que tiene mielofibrosis que expresa CXCL12. En el presente documento también se divulgan como referencia métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene mielofibrosis a un tratamiento con FTI, métodos para seleccionar un paciente de mielofibrosis para un tratamiento con FTI, métodos para estratificar pacientes de mielofibrosis para un tratamiento con FTI y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de mielofibrosis para un tratamiento con FTI. En algunos ejemplos, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene mielofibrosis para determinar que el sujeto tiene mielofibrosis que expresa CXCL12 antes de administrar el FTI al sujeto. En algunos ejemplos, el FTI es tipifarnib.

En el presente documento se divulgan como referencia métodos para tratar la macroglobulinemia de Waldenström que expresa CXCL12 en un sujeto, que incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un FTI al sujeto que tiene macroglobulinemia de Waldenström que expresa CXCL12. En el presente documento también se divulgan como referencia métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene macroglobulinemia de Waldenström para un tratamiento con FTI, métodos para seleccionar un paciente de mielofibrosis para un tratamiento con FTI, métodos para estratificar pacientes de macroglobulinemia de Waldenström para un tratamiento con FTI y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población FTI de pacientes de macroglobulinemia de Waldenström para un tratamiento con FTI. En algunos ejemplos, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene macroglobulinemia de Waldenström para determinar que el sujeto tiene macroglobulinemia de Waldenström que expresa CXCL12 antes de administrar el FTI al sujeto. En algunos ejemplos, el FTI es tipifarnib.

En el presente documento se divulgan como referencia métodos para tratar el sarcoma que expresa CXCL12 en un sujeto, que incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un FTI al sujeto que tiene un sarcoma que expresa CXCL12. En el presente documento también se divulgan como referencia métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene sarcoma a un tratamiento con FTI, métodos para seleccionar un paciente de sarcoma para un tratamiento con FTI, métodos para estratificar pacientes de sarcoma para un tratamiento con FTI y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de sarcoma para un tratamiento con FTI. En algunos ejemplos, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene sarcoma para determinar que el sujeto tiene sarcoma que expresa CXCL12 antes de administrar el FTI al sujeto. En algunos ejemplos, el FTI es tipifarnib.

En algunas realizaciones, la muestra del sujeto puede ser una biopsia de tumor o una muestra de fluido corporal. En algunas realizaciones, la muestra puede ser una muestra de sangre completa, una muestra de sangre parcialmente purificada, una muestra de sangre periférica, una muestra de suero, una muestra de células o una muestra de ganglio linfático. En algunas realizaciones, la muestra puede ser células mononucleares de sangre periférica (PBMNC).

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión del gen CXCL12 en una muestra de un sujeto que tiene AITL, en donde se determina que el sujeto tiene AITL que expresa CXCL12 si el nivel de expresión en la muestra es mayor que un nivel de referencia de CXCL12. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

- 5 En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión de la proteína CXCL12 en una muestra de un sujeto que tiene AITL y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de expresión de la proteína CXCL12 en la muestra es superior al nivel de referencia de la proteína CXCL12. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

- 10 En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión de la proteína KIR3DL2 en una muestra de un sujeto que tiene AITL y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de expresión de la proteína KIR3DL2 en la muestra es menor que un nivel de referencia de la proteína KIR3DL2. En ciertas realizaciones, la expresión de la proteína KIR3DL2 se determina mediante IHC. En ciertas realizaciones, la expresión de la proteína KIR3DL2 se determina mediante FACS.

- 15 En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar la proporción de células que expresan KIR3DL2 en una muestra de un sujeto que tiene AITL y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si la proporción de células que expresan KIR3DL2 en la muestra es menor que un nivel de referencia.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión de ARNm de KIR3DL2 en una muestra de un sujeto que tiene AITL y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de expresión de ARNm de KIR3DL2 en la muestra es inferior al nivel de referencia de ARNm de KIR3DL2.

- 20 En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de CXCL12 circulante en suero en una muestra de un sujeto que tiene AITL y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de CXCL12 circulante en suero en la muestra es mayor que un nivel de referencia de CXCL12 circulante en suero. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

- 25 En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el nivel de expresión del gen CXCR4 en la muestra del sujeto que tiene AITL, y la razón del nivel de expresión de un gen CXCL12 con respecto al del gen CXCR4, en donde se determina que el sujeto tiene una razón de expresión de CXCL12/CXCR4 alta si la razón es mayor que una razón de referencia. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de ARNm de un gen en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

- 30 En algunas realizaciones, el nivel de ARNm del gen se determina mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), qPCR, qRT-PCR, RNA-seq, análisis de micromatrices, SAGE, técnica MassARRAY, secuenciación de próxima generación o FISH.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de proteína de un gen en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

- 35 En algunas realizaciones, el nivel de proteína del gen se puede determinar mediante un ensayo de inmunohistoquímica (IHC), un ensayo de inmunotransferencia (IB), un ensayo de inmunofluorescencia (IF), citometría de flujo (FACS) o un Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA). El ensayo IHC puede ser tinción con H y E.

- 40 En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar la razón de expresión de CXCL12 con respecto a la expresión de CXCR4 en la muestra del sujeto que tiene AITL para que sea mayor que una razón de referencia. En algunas realizaciones, la razón de referencia puede ser 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o 20. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

- 45 En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión de CXCL12 en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, los métodos incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib a un sujeto que tiene AITL si el nivel de expresión de CXCL12 en una muestra del sujeto es mayor que un nivel de referencia. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el nivel de expresión de CXCR4 en la muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib a un sujeto que tiene AITL si el nivel de expresión de CXCR4 en una muestra del sujeto es menor que un nivel de referencia.

- 50 En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar la razón del nivel de expresión de CXCL12 con respecto a la expresión de CXCR4 en la muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib a un sujeto que tiene AITL si la razón del nivel de expresión de CXCL12 con respecto a la expresión de CXCR4 en una muestra del sujeto es mayor que una razón de referencia.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen analizar los niveles de expresión en una muestra de un sujeto mediante RT-PCR, micromatrices, matrices de cuentas citométricas, ELISA o Tinción de citocina intracelular (ICS). En algunas realizaciones, la muestra es una muestra de suero.

En algunas realizaciones, los métodos para tratar el AITL que expresa CXCL12 en un sujeto con tipifarnib, métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene AITL a un tratamiento con tipifarnib, métodos para seleccionar un paciente de AITL para un tratamiento con tipifarnib, métodos para estratificar pacientes de AITL para un tratamiento con tipifarnib, y métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de AITL a un tratamiento con tipifarnib incluyen adicionalmente determinar el nivel de expresión de un marcador de AITL seleccionado del grupo que consiste en CXCL13 y PD-1, en una muestra de un sujeto que tiene AITL, en donde si el nivel de expresión del gen adicional en la muestra es más alto que un nivel de expresión de referencia, se predice que el sujeto probablemente responderá a un tratamiento con tipifarnib, o se le administrará una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el estado de variantes de un solo nucleótido (SNV) de CXCL12 en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, se predice que un sujeto que tiene AITL responda a un tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra no tiene la SNV rs2839695 de CXCL12 (Nomenclatura de variantes de secuencia - Sociedad de variación del genoma humano: NC_000010.10:g.44873849A>G, NC_000010.11:g.44378401A>G, NG_016861.1:g.11697T>C, NM_000609.6:c.266+236T>C, NM_001033886.2:c.266+236T>C, NM_001178134.1:c.266+236T>C, NM_001277990.1:c.109+2432T>C, NM_199168.3:c.*232T>C, XR_001747171.1:n.331+236T>C, XR_001747172.1:n.331+236T>C, XR_001747173.1:n.331+236T>C, XR_001747174.1:n.331+236T>C. Los rs17511729, rs17881270 descritos anteriormente se han fusionado en rs2839695).

En algunas realizaciones, se predice que un sujeto que tiene AITL responda a un tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra no tiene una SNV en la posición 44873186 (HGVS: NC_000010.10:g.44873186C>T) de la UTR 3' de CXCL12.

En algunas realizaciones, se predice que un sujeto que tiene AITL responda a un tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra no tiene una SNV en la UTR 3' de CXCL12.

En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda a un tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra no tiene una SNV en el gen CXCL12 que da como resultado una baja expresión de CXCL12 o la expresión de una proteína CXCL12 inactiva. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado a EBV.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el estado de SNV de SIK3 en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda al tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra tiene una SNV en la secuencia codificante N-terminal de SIK3. En realizaciones específicas, la SNV en la secuencia codificante N-terminal es S986Y. En realizaciones específicas, la SNV en la secuencia codificante N-terminal es P1076R. En realizaciones específicas, la SNV en la secuencia codificante N-terminal es P1136R. En realizaciones específicas, la SNV en la secuencia codificante N-terminal es S1163G. En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda al tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra tiene una SNV de SIK3. En realizaciones específicas, la SNV de SIK3 es N559H. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda a un inhibidor mitótico, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor mitótico si la muestra tiene una variante del gen SIK3. En algunas realizaciones, el inhibidor mitótico es un inhibidor de Aurora Quinasa. En algunas realizaciones, el inhibidor mitótico es Alisertib. En algunas realizaciones, el inhibidor mitótico es un inhibidor de PLK-1. En algunas realizaciones, el inhibidor mitótico es Volasertib.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el estado de SNV de CENPF en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda al tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra tiene la variante del gen R2729Q. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que el sujeto que tiene AITL responda a un inhibidor mitótico, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor mitótico si la muestra tiene la variante del gen R2729Q. En algunas realizaciones, el inhibidor mitótico es un inhibidor de Aurora Quinasa. En algunas realizaciones, el inhibidor mitótico es Alisertib. En algunas realizaciones, el inhibidor mitótico es un inhibidor de PLK-1. En algunas realizaciones, el inhibidor mitótico es Volasertib.

Se divulga como referencia, que se selecciona un FTI de referencia del grupo que consiste en lonafarnib, CP-609,754, BMS-214662, L778123, L744823, L739749, R208176, AZD3409 y FTI-277. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1 a 1000 mg/kg de peso corporal. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 200-1200 mg dos veces al día ("b.i.d."). En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 600

mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 900 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1200 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 975, 1000, 1025, 1050, 1075, 1100, 1125, 1150, 1175 o 1200 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra diariamente durante un período de uno a siete días. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra en semanas alternas. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra los días 1-7 y 15-21 de un ciclo de tratamiento de 28 días. En algunas realizaciones, el período de tratamiento puede continuar hasta durante 12 meses. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra por vía oral a una dosis de 900 mg dos veces al día los días 1-7 y 15-21 de un ciclo de tratamiento de 28 días.

En algunas realizaciones, tipifarnib se administra antes, durante o después de la irradiación. En algunas realizaciones, los métodos también incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente activo secundario o una terapia asistencial de apoyo al sujeto. En algunas realizaciones, el agente activo secundario es un agente hipometilante del ADN, un anticuerpo terapéutico que se une específicamente a un antígeno canceroso, un factor de crecimiento hematopoyético, una citocina, un agente anticanceroso, un antibiótico, un inhibidor de cox-2, un agente inmunomodulador, anti-globulina de timocitos, agente inmunosupresor, corticosteroide o un derivado farmacológico de los mismos. En algunas realizaciones, el agente activo secundario es un agente hipometilante de ADN, tal como azacitidina o decitabina.

Breve descripción de los dibujos

FIG. 1. Número de ciclos de tratamiento recibido por los sujetos del estudio clínico con tipifarnib para PTCL. Las flechas indican el tratamiento en curso.

FIG. 2. Probabilidad de supervivencia libre de progresión (SLP) a lo largo del tiempo (días) para una razón CXCL12/CXCR4 menor o igual a 0,200 (mediana de SLP (mSLP) de 51 días) y mayor de 0,200 (mSLP de 189 días).

FIG. 3. Razón de expresión de CXCL12/CXCR4 para sujetos con SNV rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12 (círculos vacíos) frente a sujetos con la UTR 3' de CXCL12 de referencia (círculos rellenos).

FIG. 4. Probabilidad de supervivencia libre de progresión (SLP) a lo largo del tiempo (días) para sujetos con la SNV rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12 (mSLP de 48 días) frente a sujetos con la UTR 3' de CXCL12 de referencia (mSLP de 189 días).

FIG. 5. Número de ciclos de tratamiento recibidos por sujetos PTCL-NOS, PTCL-AITL o ALCL-ALK en el estudio clínico con tipifarnib para PTCL. Las flechas indican el tratamiento en curso. RP: respuesta parcial; ES: enfermedad estable; EP: enfermedad progresiva.

FIG. 6. Probabilidad de supervivencia libre de progresión (SLP) a lo largo del tiempo (días) para sujetos con la SNV rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12 (mSLP de 50 días) frente a sujetos con la UTR 3' de CXCL12 de referencia (mSLP de 134 días).

FIG. 7. Expresión de CXCL12 en líneas celulares de leucemia y linfoma de células T (T-LL) resistentes y sensibles a tipifarnib.

FIG. 8. Potencia de tipifarnib (CI50) en líneas celulares T-LL que dependen de los niveles de expresión de CXCL12.

FIG. 9. Probabilidad de supervivencia libre de progresión (SLP) a lo largo del tiempo (días) para pacientes con AML debilitados y de edad avanzada recién diagnosticados en diferentes terciles de expresión de CXCL12 (ensayo CTEP-20, fase 2).

FIG. 10. Probabilidad de supervivencia libre de progresión (SLP) a lo largo del tiempo (días) para pacientes con AMP en recaída/refractaria en diferentes quintiles de expresión de CD44 (ensayo INT17, fase 2).

FIG. 11. Porcentaje de reducción en SPD durante los ciclos de tratamiento con tipifarnib para sujetos con la UTR 3' de CXCL12 de referencia ("Referencia") (8 sujetos) frente a sujetos con la UTR 3' variante de CXCL12 (8 sujetos con la SNV rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12 y un sujeto con una nueva variante en la UTR 3' de CXCL12). SPD es la Suma de los Productos de los Diámetros, que es una medida del tamaño del tumor. Los datos de SPD no están disponibles para 2 pacientes.

FIG. 12A. Pacientes libres de progresión (%) a lo largo del tiempo (días) en el grupo tratado con tipifarnib (mSLP de 133 días) frente al grupo tratado con la última terapia previa (mSLP de 85 días), en pacientes con la UTR 3' de CXCL12 de referencia (8 pacientes). $p = 0,09$.

FIG. 12B. Pacientes libres de progresión (%) a lo largo del tiempo (días) en el grupo tratado con tipifarnib (mSLP de 34 días) frente al grupo tratado con la última terapia previa (mSLP de 43 días), en pacientes con la UTR 3' variante de CXCL12 (8 pacientes con la SNV rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12 y 1 paciente con una nueva variante en la UTR 3' de CXCL12). No se observaron diferencias significativas.

FIG. 12C. Log de la razón de expresión de CXCL12/CXCR4 en sujetos con la UTR 3' de CXCL12 de referencia ("referencia") y sujetos con la SNV rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12 ("rs2839695"). N = 15. p = 0,038. Se observó una expresión baja de CXCL12 en muestras de tumores que portaban la variante en la UTR 3' de CXCL12 rs2839695.

FIG. 13A. Supervivencia libre de progresión (%) en sujetos tratados con tipifarnib a lo largo del tiempo (días) en el grupo con baja expresión de CXCL12 (mSLP de 49 días) frente al grupo con alta expresión de CXCL12 (mSLP de 190 días). HR = 0,22. p = 0,0015. La mediana del número de tratamientos previos es 4. Se observó una baja expresión de CXCL12 en muestras tumorales que portaban la variante en la UTR 3' de CXCL12 rs2839695.

FIG. 13B. Supervivencia libre de progresión (%) en sujetos durante la última terapia previa a lo largo del tiempo (días) en el grupo con baja expresión de CXCL12 frente al grupo con alta expresión de CXCL12. No se observaron diferencias significativas.

Descripción detallada

Como se emplea en el presente documento, los artículos "un", "uno", "una", "el" y "la" se refieren a uno o más de uno de los objetos gramaticales del artículo. A modo de ejemplo, una muestra se refiere a una muestra o dos o más muestras.

Como se emplea en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un mamífero. Un sujeto puede ser un mamífero humano o no humano tal como un perro, gato, bóvido, équido, ratón, rata, conejo o especies transgénicas de los mismos. El sujeto puede ser un paciente, un paciente con cáncer o un paciente con cáncer PTCL.

Como se emplea en el presente documento, el término "muestra" se refiere a un material o mezcla de materiales que contienen uno o más componentes de interés. Una muestra de un sujeto se refiere a una muestra obtenida del sujeto, incluidas muestras de tejido biológico o con su origen en fluidos, obtenidas, conseguidas o recolectadas *in vivo* o *in situ*. Se puede obtener una muestra de una región de un sujeto que contenga células o tejidos precancerosos o cancerosos. Tales muestras pueden ser, pero no se limitan a, órganos, tejidos, fracciones y células aislados de un mamífero. Las muestras ilustrativas incluyen ganglios linfáticos, sangre completa, sangre parcialmente purificada, suero, médula ósea y células mononucleares de sangre periférica ("PBMC"). Una muestra también puede ser una biopsia de tejido. Las muestras ilustrativas también incluyen producto lisado celular, un cultivo celular, una línea celular, un tejido, tejido oral, tejido gastrointestinal, un órgano, un orgánulo, un fluido biológico, una muestra de sangre, una muestra de orina, una muestra de piel y similares.

Como se emplea en el presente documento, el término "analizar" una muestra se refiere a llevar a cabo un ensayo reconocido en la técnica para realizar una evaluación con respecto a una propiedad o característica particular de la muestra. La propiedad o característica de la muestra puede ser, por ejemplo, el tipo de células en la muestra o el nivel de expresión de un gen en la muestra.

Como se emplean en el presente documento, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento", cuando se utilizan con referencia a un paciente con cáncer, se refieren a una acción que reduce la gravedad del cáncer o retrasa o ralentiza la progresión del cáncer, incluyendo (a) inhibir el crecimiento del cáncer, o detener el desarrollo del cáncer, y (b) causar la regresión del cáncer, o retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la presencia del cáncer.

Como se emplean en el presente documento, los términos "administrar", "administrando" o "administración" se refieren al acto de suministrar, o hacer que se suministre, un compuesto o una composición farmacéutica al organismo de un sujeto mediante un método descrito en el presente documento o conocido de otro modo en la técnica. La administración de un compuesto o una composición farmacéutica incluye prescribir un compuesto o una composición farmacéutica que se va a suministrar al organismo de un paciente. Las formas de administración ilustrativas incluyen formas de dosificación oral, tales como comprimidos, cápsulas, jarabes, suspensiones; formas de dosificación inyectables, tales como intravenosa (IV), intramuscular (IM) o intraperitoneal (IP); formas de dosificación transdérmica, que incluyen cremas, gelatinas, polvos o parches; formas de dosificación bucal; polvos para inhalación, aerosoles, suspensiones y supositorios rectales.

Como se emplea en el presente documento, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto cuando se utiliza con relación a una enfermedad o trastorno se refiere a una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o manejo de la enfermedad o trastorno o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad del compuesto que, cuando se utiliza solo o combinado con otras terapias, proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o manejo de la enfermedad o trastorno. El término abarca una cantidad que mejora la terapia general, reduce o evita los síntomas o aumenta la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico. El término también se refiere a la cantidad de un compuesto que provoca suficientemente la respuesta biológica o médica de una molécula biológica (p. ej., una proteína, enzima, ARN o ADN), célula, tejido, sistema, animal o ser humano, que está siendo buscada por un investigador, veterinario, médico o profesional clínico.

Como se emplea en el presente documento, los términos "expresar" o "expresión" cuando se utilizan con relación a un gen se refieren al proceso por el cual la información portada por el gen se manifiesta como fenotipo, incluida la transcripción del gen a un ARN mensajero (ARNm), la posterior traducción de la molécula de ARNm a una cadena polipeptídica y su ensamblaje en la proteína final.

Como se emplea en el presente documento, el término "nivel de expresión" de un gen se refiere a la cantidad o acumulación del producto de expresión del gen, tal como, por ejemplo, la cantidad de un producto de ARN del gen (el nivel de ARN del gen) o la cantidad de un producto proteico del gen (el nivel de proteína del gen). Si el gen tiene más de un alelo, el nivel de expresión de un gen se refiere a la cantidad total de acumulación del producto de expresión de todos los alelos existentes para este gen, a menos que se especifique lo contrario.

Como se emplea en el presente documento, el término "referencia" cuando se utiliza con relación a un valor cuantificable se refiere a un valor predeterminado que se puede utilizar para determinar la importancia del valor medido en una muestra.

Como se emplea en el presente documento, el término "nivel de expresión de referencia" se refiere a un nivel de expresión predeterminado de un gen que se puede utilizar para determinar la importancia del nivel de expresión del gen en una célula o en una muestra. Un nivel de expresión de referencia de un gen puede ser el nivel de expresión del gen en una célula de referencia determinado por un experto en la técnica. Por ejemplo, el nivel de expresión de referencia de un gen CXCL12 puede ser su nivel de expresión promedio en células T CD4+ no sometidas a tratamiento previo. Por consiguiente, se puede determinar el nivel de expresión del gen CXCL12, si es superior al nivel de expresión medio del gen en células T CD4+ no sometidas a tratamiento previo, indica que la célula es una célula que expresa CXCL12. Un nivel de expresión de referencia de un gen también puede ser un valor de corte determinado por un experto en la técnica a través del análisis estadístico de los niveles de expresión del gen en diversas poblaciones de células de muestra. Por ejemplo, al analizar los niveles de expresión de un gen en poblaciones de células de muestra que tienen al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90% de células que se sabe que expresan ese gen, un experto en la técnica puede determinar un valor de corte como nivel de expresión de referencia del gen, que se puede utilizar para indicar los porcentajes de células que expresan el gen en una población celular con constitución desconocida.

El término "razón de referencia" como se utiliza en el presente documento con relación a los niveles de expresión de dos genes se refiere a una razón predeterminada por un experto en la técnica que se puede utilizar para determinar la importancia de la razón de los niveles de estos dos genes en una célula o en una muestra. La razón de referencia de los niveles de expresión de dos genes puede ser la razón de los niveles de expresión de estos dos genes en una célula de referencia determinada por un experto en la técnica. Una razón de referencia también puede ser un valor de corte determinado por un experto en la técnica a través del análisis estadístico de las razones de los niveles de expresión de los dos genes en diversas poblaciones de células de muestra.

Como se emplea en el presente documento, los términos "capacidad de respuesta" o "responde" cuando se utilizan con relación a un tratamiento se refieren a la eficacia del tratamiento para reducir o disminuir los síntomas de la enfermedad que se está tratando. Por ejemplo, un paciente con cáncer responde a un tratamiento con FTI si el tratamiento con FTI inhibe eficazmente el crecimiento del cáncer o detiene el desarrollo del cáncer, provoca la regresión del cáncer o retrasa o minimiza uno o más síntomas asociados con la presencia del cáncer en este paciente.

La capacidad de respuesta a un tratamiento particular de un paciente con cáncer se puede caracterizar como una respuesta completa o parcial. "Respuesta completa" o "RC" se refiere a una ausencia de enfermedad clínicamente detectable con normalización de estudios radiográficos, ganglios linfáticos y líquido cefalorraquídeo (LCR) previamente anormales o mediciones anormales de proteínas monoclonales. "Respuesta parcial" o "RP" se refiere a al menos aproximadamente una disminución de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% en toda la carga tumoral medible (es decir, el número de células malignas presentes en el sujeto, o el volumen medido de masas tumorales o la cantidad de proteína monoclonal anormal) en ausencia de nuevas lesiones.

Un experto con un conocimiento normal de la técnica entendería que los patrones clínicos utilizados para definir RC, RP u otro nivel de capacidad de respuesta del paciente a los tratamientos pueden variar para diferentes subtipos de cáncer. Por ejemplo, para los cánceres hematopoyéticos, el paciente que "responde" a un tratamiento en particular se puede definir como un paciente que tiene una respuesta completa (RC), una respuesta parcial (RP) o una mejoría hematológica (MH) (Lancet et al., *Blood* 2:2 (2006)). La MH se puede definir como cualquier recuento de blastocitos en los ganglios linfáticos inferior a 5% o una reducción de los blastocitos en los ganglios linfáticos de al menos la mitad. Por otro lado, el paciente que "no responde" a un tratamiento particular puede definirse como un paciente que tiene enfermedad progresiva (EP) o enfermedad estable (EE). La enfermedad progresiva (EP) se puede definir como un aumento >50% de los ganglios linfáticos o el % de blastos circulantes desde el inicio, o la nueva aparición de blastos circulantes (en al menos 2 ocasiones consecutivas). La enfermedad estable (EE) se puede definir como cualquier respuesta que no cumpla con los criterios de RC, RP, MH o EP.

Como se emplean en el presente documento, los términos "seleccionar" y "seleccionado" con referencia a un paciente (p. ej., un paciente con PTCL o un paciente con AML) se utiliza para significar que un paciente en particular se elige específicamente de un grupo más grande de pacientes basándose en (debido a) que el paciente particular tiene un criterio predeterminado o un conjunto de criterios predeterminados, p. ej., el paciente tiene una razón de nivel de expresión de CXCL12/CXCL4 mayor que una razón de referencia. De manera similar, "tratar selectivamente a un paciente" se refiere a proporcionar tratamiento a un paciente (p. ej., un paciente con PTCL o AML) que se elige específicamente de un grupo más grande de pacientes basándose en (debido a) que el paciente particular tiene un criterio predeterminado o un conjunto de criterios predeterminados, p. ej., que el paciente tiene una razón del nivel de

expresión de CXCL12/CXCL4 mayor que una razón de referencia. De manera similar, "administrar selectivamente" se refiere a administrar un fármaco a un paciente (p. ej., un paciente con PTCL o AML) que se elige específicamente de un grupo más grande de pacientes basándose en (debido a) que el paciente particular tiene un criterio predeterminado o un conjunto de criterios predeterminados, p. ej., que el paciente tiene una razón de nivel de expresión de CXCL12/CXCL4 mayor que una razón de referencia. Por seleccionar, tratar selectivamente y administrar selectivamente, se entiende que un paciente recibe una terapia personalizada para una enfermedad o trastorno, p. ej., cáncer (tal como PTCL o AML), según la biología del paciente, en lugar de recibir un régimen de tratamiento convencional basado únicamente en el hecho de tener la enfermedad o trastorno (p. ej., PTCL o AML).

Como se emplea en el presente documento, el término "probabilidad" se refiere a la probabilidad de un evento. Es "probable" que un sujeto responda a un tratamiento particular cuando se cumple una condición significa que la probabilidad de que el sujeto responda a un tratamiento particular es mayor cuando se cumple la condición que cuando no se cumple la condición. La probabilidad de responder a un tratamiento en particular puede ser mayor, por ejemplo, 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200% o más en un sujeto que cumple una condición particular en comparación con un sujeto que no cumple la condición. Por ejemplo, es "probable" que un sujeto que tiene PTCL responda a un tratamiento con FTI cuando el sujeto tiene una alta razón de expresión de CXCL12/CXCR4 significa que la probabilidad de que un sujeto responda al tratamiento con FTI es 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200% o más en un sujeto que tiene una alta razón de expresión de CXCL12/CXCR4 en comparación con un sujeto que tiene una baja razón de expresión de CXCL12/CXCR4.

CXCL12 (o factor 1 derivado del estroma) es un potente agente quimiotáctico para los linfocitos. Durante la embriogénesis, CXCL12 dirige la migración de células hematopoyéticas del hígado fetal al hueso y, en la edad adulta, CXCL12 juega un papel importante en la angiogénesis al reclutar células progenitoras endoteliales a través de un mecanismo dependiente de CXCR4. CXCL12 también se expresa dentro de la pulpa roja esplénica y los cordones medulares de los ganglios linfáticos. Véase Pitt et al., 2015, Cancer Cell 27:755-768 y Zhao et al., 2011, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108:337-342. Se puede encontrar una secuencia de aminoácidos ilustrativa y una secuencia de ácido nucleico codificante correspondiente de CXCL12 humano en GENBANK ACCESSION NOS.: NP_000600.1 y NM_000609.6, respectivamente.

CXCR4 (también conocido como fusina o CD184) es un receptor específico para CXCL12. Se puede encontrar una secuencia de aminoácidos ilustrativa y una secuencia de ácido nucleico codificante correspondiente de CXCR4 humano en GENBANK ACCESSION NOS.: NP_001008540.1 y NM_001008540.1, respectivamente.

Las moléculas KIR (Receptor tipo Inmunoglobulina de Células Asesinas) son glicoproteínas transmembrana expresadas por células asesinas naturales y ciertos subconjuntos de células T, e incluyen, por ejemplo, KIR2DS2, KIR2DS5, KIR3DL1 y KIR3DL2. Se puede encontrar una secuencia de aminoácidos ilustrativa y una secuencia de ácido nucleico codificante correspondiente de KIR3DL2 humano en GENBANK ACCESSION NOS.: NP_001229796.1 y NM-001242867.1, respectivamente.

El supresor de tumores LKB1 actúa a través de la quinasa 2 inducible por sal (SIK2) y SIK3 para promover el tráfico nucleocitoplásmico de histonas desacetilasas de clase IIa. Véase Walkinshaw et al., 2013, J. Biol. Chem. 288:9345-9362. SIK3 es importante para una mitosis adecuada y la regulación por disminución de SIK3 da como resultado una salida mitótica retardada. La inhibición de SIK3 sensibiliza las células a la inhibición farmacológica de quinasas mitóticas, incluidas Aurora A, Aurora B y quinasa tipo polo 1. Véase Chen et al., 2014, Cell Death and Disease 5:e1177. Se puede encontrar una secuencia de aminoácidos ilustrativa y una secuencia de ácido nucleico codificante correspondiente de SIK3 humana en GENBANK ACCESSION NOS.: NP_001268678.1 y NM_001281749.1, respectivamente.

CENPF es una proteína farnesilada que se une a los cinetocoros. La localización de CENPF en la envoltura nuclear en G2/M y en los cinetocoros en la prometafase depende de la actividad de la farnesil transferasa. La actividad farnesil transferasa también es necesaria para la degradación de la proteína CENPF después de la mitosis. Véase Hussein et al., 2002, J. Cell Sci. 115:3403-3414. Se puede encontrar una secuencia de aminoácidos ilustrativa y una secuencia de ácido nucleico codificante correspondiente de CENPF humano en GENBANK ACCESSION NOS.: NP_057427.3 y NM_016343.3., Respectivamente.

El linfoma es el cáncer de sangre más común. Las dos formas principales de linfoma son el linfoma de Hodgkin, o HL, y el linfoma no Hodgkin, o NHL. El linfoma ocurre cuando las células del sistema inmunológico llamadas linfocitos crecen y se multiplican sin control. Los linfocitos cancerosos pueden viajar a muchas partes del cuerpo, incluidos los ganglios linfáticos, el bazo, la sangre u otros órganos, y formar tumores. El cuerpo tiene dos tipos principales de linfocitos que pueden convertirse en linfomas: células B y células T.

La AML es un cáncer de la línea mieloide de células sanguíneas. La AML se caracteriza por el rápido crecimiento de glóbulos blancos anormales que pueden acumularse en la médula ósea e interferir en la producción de glóbulos normales. La AML es la leucemia aguda más común que afecta a los adultos y su incidencia aumenta con la edad. La AML representa aproximadamente 1,2% de las muertes por cáncer en los Estados Unidos y, en general, se espera que su incidencia aumente a medida que la población envejece. Se cree que los síntomas de la AML se relacionan con el reemplazo de la médula ósea normal por células leucémicas, lo que puede provocar una disminución de los glóbulos rojos, plaquetas y glóbulos blancos normales. Los síntomas de la AML pueden incluir fatiga, dificultad para respirar, moretones y sangrado fáciles y mayor riesgo de infección. La leucemia mieloide aguda a menudo progresa

rápidamente y, por lo general, es mortal en semanas o meses si no se trata.

El PTCL consiste en un grupo de NHL raros y generalmente agresivos (de rápido crecimiento) que se desarrollan a partir de células T maduras. Los PTCL representan colectivamente aproximadamente de 5 a 10 por ciento de todos los casos de NHL, lo que corresponde a una incidencia anual de aproximadamente 5.000 pacientes por año en los EE. UU. En algunas estimaciones, la incidencia de PTCL está creciendo significativamente, y el aumento de la incidencia puede ser atribuible a una población envejecida.

Los PTCL se subclasifican en varios subtipos, incluido el Linfoma anaplásico de células grandes (ALCL), ALK positivo; ALCL, ALK negativo; Linfoma angioinmunoblástico de células T (AITL); Linfoma de células T asociado a enteropatía; Linfoma extraganglionar de células T asesinas naturales (NK) de tipo nasal; Linfoma hepatoesplénico de células T; PTCL, no especificado de otra manera (NOS); y linfoma de células T de tipo paniculitis subcutánea. Cada uno de estos subtipos se considera típicamente como enfermedades separadas en función de sus distintas diferencias clínicas. La mayoría de estos subtipos son raros; los tres subtipos más comunes son PTCL NOS, AITL y ALCL, y en conjunto representan aproximadamente 70 por ciento de todos los casos de PTCL. En algunos ejemplos del presente documento, el PTCL es PTCL en recaída o refractario. En otros ejemplos, el PTCL es PTCL avanzado en recaída o refractario.

El AITL se caracteriza histológicamente por un componente de células tumorales y un componente de células no tumorales. El componente de células tumorales comprende células neoplásicas polimorfas de tamaño mediano derivadas de un subconjunto único de células T ubicado en los centros germinales de los ganglios linfáticos llamadas células T auxiliares foliculares (TFH). Las TFH expresan CXCL13, VEGF y angpt1. CXCL13 puede inducir la expresión de CXCL12 en células mesenquimales. El VEGF y la angiopoyetina inducen la formación de vénulas de células endoteliales que expresan CXCL12. El componente de células no tumorales comprende vasos sanguíneos prominentes en arborización, proliferación de células dendríticas foliculares y blastos de células B EBV+ dispersos. La visualización de los vasos sanguíneos en arborización es un sello distintivo del diagnóstico de AITL. Al visualizar los vasos (vénulas endoteliales), se pueden identificar células endoteliales que expresan CXCL12. La pérdida dirigida de la expresión de CXCL12 en las células endoteliales vasculares se traduce en la pérdida de tumores de células T en los ganglios linfáticos, el bazo y la médula ósea (Pitt et al., 2015, "CXCL12-Producing Vascular Endothelial Niches Control Acute T Cell Leukemia Maintenance", Cancer Cell 27:755-768). Estas son las ubicaciones de los tumores no solo para T-LL sino también para AITL.

Las células T se pueden separar en tres grupos principales según su función: células T citotóxicas, células T auxiliares (Th) y células T reguladoras (Treg). La expresión diferencial de marcadores sobre la superficie celular, así como sus distintos perfiles de secreción de citocinas, proporcionan pistas valiosas sobre la naturaleza y función diversas de las células T. Por ejemplo, las células T citotóxicas CD8+ destruyen las células diana infectadas mediante la liberación de perforina, granzimas y granulisina, mientras que las células T auxiliares CD4+ tienen poca actividad citotóxica y secretan citocinas que actúan sobre otros leucocitos tales como las células B, macrófagos, eosinófilos o neutrófilos para eliminar patógenos. Las Treg suprimen la función de las células T mediante varios mecanismos que incluyen la unión a subconjuntos de células T efectoras y la prevención de la secreción de sus citocinas. Las células T auxiliares se pueden clasificar adicionalmente en clases diferentes, que incluyen, p. ej., células Th1, Th2, Th9, Th17 y Tfh. La diferenciación de las células T CD4+ en células efectoras Th1 y Th2 está controlada en gran medida por los factores de transcripción TBX21 (Proteína T-Box 21; T-bet) y GATA3 (GATA3), respectivamente. Tanto TBX21 como GATA3 son factores de transcripción que son reguladores maestros de los perfiles de expresión génica en las células T auxiliares (Th), sesgando la polarización de Th hacia las vías de diferenciación Th1 y Th2, respectivamente. Por tanto, las células Th1 se caracterizan por altos niveles de expresión de TBX21 y los genes diana activados por TBX21, y bajos niveles de expresión de GATA3 y genes activados por GATA3. Por el contrario, las células Th2 se caracterizan por altos niveles de expresión de GATA3 y los genes diana activados por GATA3, y bajos niveles de expresión de TBX21 y genes activados por TBX21. PTCL y sus subtipos (p. ej., PTCL NOS) se pueden clasificar en función de la obtención del linaje Th1 o Th2.

A. métodos

La presente invención proporciona tipifarnib para su uso en un método de tratamiento de un linfoma angioinmunoblástico de células T (AITL) en un sujeto.

En algunas realizaciones, el método comprende métodos para seleccionar un sujeto que tiene AITL para el tratamiento con tipifarnib. Los métodos se basan, en parte, en el descubrimiento de que los pacientes que tienen cánceres con diferente expresión génica responden de manera diferente a un tratamiento con tipifarnib, y que los beneficios clínicos del tipifarnib están asociados con el nivel de expresión de ciertos genes y variantes de genes en el cáncer. Por ejemplo, los métodos se basan en el descubrimiento de que es probable que los pacientes que tienen una mayor razón de expresión de CXCL12 con respecto a la expresión de CXCR4 respondan a un tratamiento con tipifarnib, y la selección de la población de pacientes que tiene un cáncer con una alta razón de expresión de CXCL12 con respecto a CXCR4 para un tratamiento con tipifarnib puede aumentar la tasa de respuesta general del tratamiento con tipifarnib para ese cáncer.

Por consiguiente, en algunas realizaciones, el método comprende métodos para aumentar la capacidad de respuesta de un tratamiento con tipifarnib para el cáncer mediante el tratamiento selectivo de pacientes de cáncer que tienen patrones de expresión génica específicos. En algunas realizaciones, el método comprende métodos para la selección

de poblaciones de pacientes de cáncer para un tratamiento con tipifarnib. En algunas realizaciones, el método comprende métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene cáncer a un tratamiento con tipifarnib basándose en el patrón de expresión génica, en donde se pronostica que es probable que un sujeto tenga una respuesta probable si el sujeto tiene ese patrón de expresión génica.

- 5 En algunas realizaciones, el método incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un FTI al sujeto que tiene AITL con un cierto patrón de expresión génica. En algunas realizaciones, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto para determinar que el sujeto tiene AITL con dicho patrón de expresión génica.

10 En algunas realizaciones, los métodos también incluyen obtener una muestra del sujeto. La muestra utilizada en los métodos proporcionados en el presente documento incluye fluidos corporales de un sujeto o una biopsia de tumor del sujeto.

15 En algunas realizaciones, la muestra utilizada en los presentes métodos incluye una biopsia (p. ej., una biopsia de tumor). La biopsia puede ser de cualquier órgano o tejido, por ejemplo, piel, hígado, pulmón, corazón, colon, riñón, médula ósea, dientes, ganglios linfáticos, cabello, bazo, cerebro, mama u otros órganos. Se puede utilizar cualquier mecanismo de biopsia conocido por los expertos en la técnica para aislar una muestra de un sujeto, por ejemplo, biopsia abierta, biopsia cerrada, biopsia central, biopsia incisional, biopsia por escisión o biopsia por aspiración con aguja fina. En algunas realizaciones, la muestra es una biopsia de ganglio linfático. En algunas realizaciones, la muestra puede ser una muestra de tejido congelada. En algunas realizaciones, la muestra puede ser una muestra de tejido embebida en parafina fijada con formalina ("FFPE"). En algunas realizaciones, la muestra puede ser una sección de tejido desparafinado.

20 En algunas realizaciones, la muestra es una muestra de fluido corporal. Los ejemplos no limitantes de fluidos corporales incluyen sangre (p. ej., sangre periférica completa, sangre periférica), plasma sanguíneo, médula ósea, líquido amniótico, humor acuoso, bilis, linfa, menstruación, suero, orina, líquido cefalorraquídeo que rodea el cerebro y la médula espinal, líquido sinovial que rodea las articulaciones óseas.

25 En algunas realizaciones, la muestra es una muestra de sangre. La muestra de sangre puede ser una muestra de sangre completa, una muestra de sangre parcialmente purificada o una muestra de sangre periférica. La muestra de sangre se puede obtener utilizando técnicas convencionales como describen, p. ej. Innis et al, editores, en PCR Protocols (Academic Press, 1990). Los glóbulos blancos se pueden separar de las muestras de sangre utilizando técnicas convencionales o kits disponibles comercialmente, p. ej. Kit RosetteSep (Stein Cell Technologies, Vancouver, Canadá). Las subpoblaciones de glóbulos blancos, p. ej. células mononucleares, células NK, células B, células T, monocitos, granulocitos o linfocitos se pueden aislar adicionalmente utilizando técnicas convencionales, p. ej., clasificación de células activadas magnéticamente (MACS) (Miltenyi Biotec, Auburn, California) o clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) (Becton Dickinson, San José, California).

30 En una realización, la muestra de sangre es de aproximadamente 0,1 mL a aproximadamente 10,0 mL, de aproximadamente 0,2 mL a aproximadamente 7 mL, de aproximadamente 0,3 mL a aproximadamente 5 mL, de aproximadamente 0,4 mL a aproximadamente 3,5 mL o de aproximadamente 0,5 mL a aproximadamente 3 mL. En otra realización, la muestra de sangre es de aproximadamente 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0 o 10,0 mL.

35 En una realización, la muestra es una muestra de médula ósea. Los procedimientos para obtener una muestra de médula ósea son bien conocidos en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, biopsia de médula ósea y aspiración de médula ósea. La médula ósea tiene una porción fluida y una porción más sólida. En la biopsia de médula ósea, se toma una muestra de la porción sólida. En la aspiración de médula ósea, se toma una muestra de la porción líquida. La biopsia de médula ósea y la aspiración de médula ósea se pueden realizar al mismo tiempo y se denominan examen de médula ósea.

40 En ciertas realizaciones, la muestra utilizada en los métodos incluye una pluralidad de células. Tales células pueden incluir cualquier tipo de células, p. ej., células madre, células sanguíneas (p. ej., PBMC), linfocitos, células NK, células B, células T, monocitos, granulocitos, células inmunitarias o células tumorales o cancerosas. Se pueden obtener poblaciones de células específicas utilizando una combinación de anticuerpos disponibles comercialmente (p. ej., Quest Diagnostic (San Juan Capistrano, Calif.); Dako (Dinamarca)). En ciertas realizaciones, la muestra utilizada en los métodos incluye PBMC.

45 En ciertas realizaciones, la muestra utilizada en los métodos incluye una pluralidad de células del tejido enfermo. En algunas realizaciones, las células se pueden obtener del tejido tumoral, tal como una biopsia de tumor o explantes de tumor. En ciertas realizaciones, el número de células utilizadas en los métodos proporcionados en el presente documento puede variar desde una única célula hasta aproximadamente 10^9 células. En algunas realizaciones, el número de células utilizadas en los métodos proporcionados en el presente documento es de aproximadamente 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 o 5×10^8 .

55 El número y tipo de células recolectadas de un sujeto se puede controlar, por ejemplo, midiendo los cambios en la morfología y los marcadores de la superficie celular utilizando técnicas convencionales de detección celular tales como citometría de flujo, clasificación celular, inmunocitoquímica (p. ej., tinción con anticuerpos específicos de tejido o

específicos de marcadores celulares), clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), clasificación de células activadas magnéticamente (MACS), mediante el examen de la morfología de las células utilizando microscopía óptica o confocal, y/o midiendo los cambios en la expresión génica utilizando mecanismos bien conocidos en la técnica, tales como PCR y perfiles de expresión génica. Estos mecanismos también se pueden utilizar para identificar células que son positivas para uno o más marcadores particulares. La clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) es un método bien conocido para separar partículas, incluidas células, en función de las propiedades fluorescentes de las partículas (Kamarch, 1987, *Methods Enzymol*, 151:150-165.). La excitación láser de radicales fluorescentes en las partículas individuales da como resultado una pequeña carga eléctrica que permite la separación electromagnética de partículas positivas y negativas de una mezcla. En una realización, los ligandos o anticuerpos específicos de marcadores de la superficie celular se marcan con distintas marcas fluorescentes. Las células se procesan a través del clasificador de células, lo que permite la separación de las células en función de su capacidad para unirse a los anticuerpos utilizados. Las partículas clasificadas por FACS se pueden depositar directamente en pocillos individuales de placas de 96 o 384 pocillos para facilitar la separación y la clonación.

En ciertas realizaciones, se utilizan subconjuntos de células en los métodos. Los métodos para clasificar y aislar poblaciones específicas de células son bien conocidos en la técnica y se pueden basar en el tamaño celular, morfología o marcadores intracelulares o extracelulares. Tales métodos incluyen, pero sin limitarse a, citometría de flujo, clasificación de flujo, FACS, separación basada en cuentas, tal como clasificación magnética de células, separación basada en tamaño (p. ej., un tamiz, una matriz de obstáculos o un filtro), clasificación en un dispositivo de microfluidos, separación basada en anticuerpos, sedimentación, adsorción por afinidad, extracción por afinidad, centrifugación en gradiente de densidad, microdissección por captura láser, etc.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de CXCL12 circulante en suero en una muestra de un sujeto que tiene AITL y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de CXCL12 circulante en suero en la muestra es mayor que un nivel de referencia de CXCL12 circulante en suero. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado a EBV.

En algunas realizaciones, la muestra utilizada en los métodos puede ser una muestra de sangre completa, una muestra de sangre parcialmente purificada, una muestra de sangre periférica, una muestra de suero, una muestra de células o una muestra de ganglio linfático. La muestra puede ser una biopsia de tejido o una biopsia de tumor. En algunas realizaciones, la muestra es una biopsia de ganglio linfático de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, la muestra son las PBMC de un sujeto que tiene AITL.

La muestra puede ser una biopsia de tumor, una muestra de sangre, una muestra de ganglio linfático o cualquier otra muestra divulgada en el presente documento.

En algunas realizaciones, los métodos son para tratar el AITL que expresa CXCL12 en un sujeto, que incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto que tiene un AITL que expresa CXCL12. En algunas realizaciones, los métodos también incluyen métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene AITL a un tratamiento con tipifarnib, métodos para seleccionar un paciente de AITL para un tratamiento con tipifarnib, métodos para estratificar pacientes de AITL para un tratamiento con tipifarnib o métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de AITL a un tratamiento con tipifarnib. En algunas realizaciones, los métodos incluyen analizar una muestra del sujeto que tiene AITL para determinar que el sujeto tiene AITL que expresa CXCL12 antes de administrar tipifarnib al sujeto.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión del gen CXCL12 en una muestra de un sujeto que tiene AITL, en donde se determina que el sujeto tiene AITL que expresa CXCL12 si el nivel de expresión en la muestra es mayor que un nivel de referencia de CXCL12.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el nivel de expresión del gen CXCR4 en la muestra del sujeto que tiene AITL, y la razón del nivel de expresión de un gen CXCL12 con respecto al del gen CXCR4, en donde se determina el sujeto tiene una razón de expresión CXCL12/CXCR4 alta si la razón es mayor que una razón de referencia.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar que la razón de expresión de CXCL12 a la expresión de CXCR4 en la muestra del sujeto que tiene AITL sea mayor que una razón de referencia. En algunas realizaciones, la razón de referencia puede ser 1/10, 1/9, 1/8, 1/7, 1/6, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o 20.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión de CXCL12 en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, los métodos incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib a un sujeto que tiene AITL si el nivel de expresión de CXCL12 en una muestra del sujeto es mayor que un nivel de referencia.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el nivel de expresión de CXCR4 en la muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, los métodos incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib a un sujeto que tiene AITL si el nivel de expresión de CXCR4 en una muestra del sujeto es menor que un nivel de referencia.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar la razón la relación del nivel de expresión de CXCL12 con respecto a la expresión de CXCR4 en la muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, los métodos incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib a un sujeto que tiene AITL si la razón del nivel de una expresión de CXCL12 con respecto a la expresión de CXCR4 en una muestra del sujeto es mayor que un nivel de referencia.

El nivel de expresión de un gen puede referirse al nivel de proteína del gen o al nivel de ARN del gen. En algunas realizaciones, el nivel de expresión de un gen se refiere al nivel de proteína del gen, y los métodos incluyen la determinación del nivel de proteína del gen.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión de ARNm de KIR3DL2 en una muestra de un sujeto que tiene AITL y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de expresión de ARNm de KIR3DL2 en la muestra es inferior al nivel de referencia de ARNm de KIR3DL2.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de ARNm de un gen en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL está asociado con EBV. En algunas realizaciones, el nivel de ARNm del gen se determina mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), qPCR, qRT-PCR, RNA-seq, análisis de micromatrices, SAGE, técnica MassARRAY, secuenciación de próxima generación o FISH.

En algunas realizaciones, el nivel de expresión de un gen se refiere al nivel de ARNm del gen, y los métodos incluyen determinar el nivel de ARNm de un gen. Los métodos para determinar el nivel de ARNm de un gen en una muestra son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el nivel de ARNm se puede determinar mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), qPCR, qRT-PCR, RNA-seq, análisis de micromatrices, SAGE, técnica MassARRAY, secuenciación de próxima generación o FISH.

Los métodos ilustrativos para detectar o cuantificar los niveles de ARNm incluyen, pero no se limitan a, métodos basados en PCR, transferencias Northern, ensayos de protección de ribonucleasas y similares. La secuencia de ARNm se puede utilizar para preparar una sonda que sea al menos parcialmente complementaria. A continuación, la sonda se puede utilizar para detectar la secuencia de ARNm en una muestra, utilizando cualquier ensayo adecuado, tal como métodos basados en PCR, transferencia Northern, un ensayo con tira reactiva y similares.

Los métodos comúnmente utilizados conocidos en la técnica para la cuantificación de la expresión de ARNm en una muestra incluyen transferencia Northern e hibridación in situ (Parker y Barnes, *Methods in Molecular Biology* 106:247-283 (1999)); Ensayos de protección de ARNasa (Hod, *Biotechniques* 13:852-854 (1992)); y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Weis et al. *Trends in Genetics* 8:263-264 (1992)). Alternativamente, se pueden emplear anticuerpos que puedan reconocer dúplex específicos, incluidos dúplex de ADN, dúplex de ARN y dúplex híbridos de ADN-ARN o dúplex de ADN-proteína. Los métodos representativos para el análisis de expresión génica basado en secuenciación incluyen el Análisis en Serie de Expresión Génica (SAGE) y el análisis de expresión génica mediante secuenciación masivamente paralela de firmas (MPSS).

Un método cuantitativo sensible y flexible es la PCR. En la bibliografía se pueden encontrar ejemplos de métodos de PCR. Se pueden encontrar ejemplos de ensayos de PCR en la Patente de Estados Unidos Núm. 6.927.024. Se pueden encontrar ejemplos de métodos de RT-PCR en la Patente de Estados Unidos Núm. 7.122.799. Un método de PCR in situ fluorescente se describe en la Patente de Estados Unidos Núm. 7.186.507.

Sin embargo, se observa que también se pueden utilizar otros protocolos de amplificación de ácidos nucleicos (es decir, distintos de la PCR) en los métodos analíticos de ácidos nucleicos descritos en el presente documento. Por ejemplo, los métodos de amplificación adecuados incluyen la reacción en cadena de la ligasa (véase, p. ej., Wu y Wallace, *Genomics* 4:560-569, 1988); ensayo de desplazamiento de hebra (véanse, p. ej., Walker et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:392-396, 1992; la Patente de Estados Unidos Núm. 5.455.166); y varios sistemas de amplificación basados en la transcripción, incluidos los métodos divulgados en las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.437.990; 5.409.818; y 5.399.491; el sistema de amplificación de la transcripción (TAS) (Kwoh et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 1173-1177, 1989); y replicación de secuencia autosostenida (3SR) (Guatelli et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 1874-1878, 1990; documento WO 92/08800). Alternativamente, se pueden utilizar métodos que amplifiquen la sonda a niveles detectables, tales como la amplificación por Q-replicasa (Kramer y Lizardi, *Nature* 339:401-402, 1989; Lomeli et al., *Clin. Chem.* 35: 1826-1831, 1989). Se proporciona una revisión de los métodos de amplificación conocidos, por ejemplo, por Abramson y Myers en *Current Opinion in Biotechnology* 4:41-47 (1993).

El ARNm se puede aislar de la muestra. La muestra puede ser una muestra de tejido. La muestra de tejido puede ser una biopsia de tumor, tal como una biopsia de ganglio linfático. Los métodos generales para la extracción de ARNm son bien conocidos en la técnica y se divulgan en libros de texto convencionales de biología molecular, que incluyen Ausubel et al., *Current Protocols of Molecular Biology*, John Wiley and Sons (1997). En particular, el aislamiento de ARN se puede realizar utilizando un kit de purificación, un juego de tampones y proteasa de fabricantes comerciales, tales como Qiagen, según las instrucciones del fabricante. Por ejemplo, el ARN total de las células en cultivo se puede aislar utilizando minicolumnas Qiagen RNeasy. Otros kits de aislamiento de ARN disponibles comercialmente incluyen MASTERPURE® Complete DNA and RNA Purification Kit (EPICENTRE®, Madison, Wis.) y Paraffin Block RNA Isolation Kit (Ambion, Inc.). El ARN total de las muestras de tejido se puede aislar utilizando RNA Stat-60 (Tel-Test).

El ARN preparado a partir de un tumor se puede aislar, por ejemplo, mediante centrifugación en gradiente de densidad de cloruro de cesio.

En algunas realizaciones, la primera etapa en el perfil de expresión génica por PCR es la transcripción inversa del molde de ARN a ADNc, seguida de su amplificación exponencial en una reacción de PCR. En otras realizaciones, se puede utilizar una reacción combinada de transcripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), p. ej., como se describe en las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.310.652; 5.322.770; 5.561.058; 5.641.864; y 5.693.517. Las dos transcriptasas inversas comúnmente utilizadas son la transcriptasa inversa del virus de la mieloblastosis aviar (AMV-RT) y la transcriptasa inversa del virus de la leucemia murina de Moloney (MMLV-RT). La etapa de transcripción inversa se realiza típicamente utilizando cebadores específicos, hexámeros aleatorios o cebadores oligo-dT, según las circunstancias y el objetivo del perfil de expresión. Por ejemplo, el ARN extraído se puede transcribir de forma inversa utilizando un kit GENEAMP™ RNA PCR (Perkin Elmer, California, EE. UU.), Siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADNc derivado se puede utilizar a continuación como molde en la siguiente reacción de PCR.

En algunas realizaciones, la PCR de transcripción inversa en tiempo real (qRT-PCR) se puede utilizar tanto para la detección como para la cuantificación de las dianas de ARN (Bustin et al., 2005, *Clin. Sci.* 109:365-379). Se pueden encontrar ejemplos de métodos basados en qRT-PCR, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos Núm. 7.101.663. Los aparatos para PCR en tiempo real, tales como Applied Biosystems 7500, están disponibles comercialmente, al igual que los reactivos, tal como la química de detección de secuencias TaqMan.

Por ejemplo, se pueden utilizar los ensayos de expresión génica TaqMan®, siguiendo las instrucciones del fabricante. Estos kits son ensayos de expresión génica formulados previamente para la detección y cuantificación rápidas y fiables de transcritos de ARNm de seres humanos, ratones y ratas. Se puede utilizar el ensayo TaqMan® o 5'-nucleasa, como se describe en las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.210.015; 5.487.972; y 5.804.375; y Holland et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7276-7280. TAQMAN® PCR normalmente utiliza la actividad nucleasa 5' de la polimerasa Taq o Tth para hidrolizar una sonda de hibridación unida a su amplicón diana, pero se puede utilizar cualquier enzima con actividad nucleasa 5' equivalente. Se utilizan dos cebadores oligonucleotídicos para generar un amplicón típico de una reacción de PCR. Se diseña un tercer oligonucleótido, o sonda, para detectar la secuencia de nucleótidos ubicada entre los dos cebadores de PCR. La sonda no es extensible por la enzima ADN polimerasa Taq y está marcada con un colorante fluorescente indicador y un colorante fluorescente extintor. Cualquier emisión inducida por láser del colorante indicador es extinguida por el colorante extintor cuando los dos colorantes están ubicados muy juntos como lo están en la sonda. Durante la reacción de amplificación, la enzima ADN polimerasa Taq escinde la sonda de una manera dependiente del molde. Los fragmentos de sonda resultantes se disocian en solución y la señal del colorante indicador liberado está libre del efecto de extinción del segundo fluoróforo. Se libera una molécula de colorante indicador por cada nueva molécula sintetizada, y la detección del colorante indicador sin extinguir proporciona la base para la interpretación cuantitativa de los datos.

Se puede utilizar cualquier método adecuado para detectar el producto de degradación en un ensayo de nucleasa 5'. A menudo, la sonda de detección se marca con dos colorantes fluorescentes, uno de los cuales es capaz de extinguir la fluorescencia del otro colorante. Los colorantes se anclan a la sonda, preferiblemente uno se ancla al extremo 5' y el otro se ancla a un sitio interno, de modo que la extinción se produce cuando la sonda está en un estado no hibridado y de tal modo que la escisión de la sonda por la actividad exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa se produce entre los dos colorantes.

La amplificación da como resultado la escisión de la sonda entre los colorantes con una eliminación concomitante de la extinción y un aumento en la fluorescencia observable del colorante inicialmente extinguido. La acumulación de producto de degradación se controla midiendo el aumento de la fluorescencia de la reacción. Las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.491.063 y 5.571.673, describen métodos alternativos para detectar la degradación de la sonda que ocurre concomitantemente con la amplificación. Los datos del ensayo de 5'-nucleasa se pueden expresar inicialmente como Ct o ciclo umbral. Como se comentó anteriormente, los valores de fluorescencia se registran durante cada ciclo y representan la cantidad de producto amplificado hasta ese punto en la reacción de amplificación. El punto en el que la señal fluorescente se registra por primera vez como estadísticamente significativa es el ciclo de umbral (Ct).

Para minimizar los errores y el efecto de la variación de una muestra a otra, la PCR generalmente se realiza utilizando un patrón interno. El patrón interno ideal se expresa a un nivel constante entre diferentes tejidos y no se ve afectado por el tratamiento experimental. Los ARN que se utilizan con más frecuencia para normalizar los patrones de expresión génica son los ARNm de los genes constitutivos gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa (GAPDH) y P-actina.

Los cebadores y sondas de PCR se diseñan basándose en las secuencias de intrones presentes en el gen que se va a amplificar. En esta realización, la primera etapa en el diseño de cebador/sonda es la delimitación de las secuencias de intrones dentro de los genes. Esto se puede realizar mediante soporte lógico disponible públicamente, tal como el soporte lógico DNA BLAST desarrollado por Kent, W., *Genome Res.* 12(4):656-64 (2002), o por el soporte lógico BLAST, incluidas sus variaciones. Las etapas posteriores siguen métodos bien establecidos de diseño de cebadores y sondas de PCR.

Para evitar señales inespecíficas, puede ser importante enmascarar secuencias repetitivas dentro de los intrones al diseñar los cebadores y las sondas. Esto se puede lograr fácilmente utilizando el programa Repeat Masker disponible

en línea a través de Baylor College of Medicine, que escruta las secuencias de ADN contra una biblioteca de elementos repetitivos y devuelve una secuencia de consulta en la que los elementos repetitivos están enmascarados. Las secuencias de intrones enmascaradas se pueden utilizar a continuación para diseñar secuencias de cebadores y sondas utilizando cualquier paquete de diseño de cebador/sonda comercial o de otro modo disponible públicamente, tal como Primer Express (Applied Biosystems); ensayo por diseño de MGB (Applied Biosystems); Primer3 (Rozen y Skaletsky (2000) Primer3 sobre la WWW para usuarios generales y para programadores biólogos. En: Krawetz S, Misener S (ed) Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology. Humana Press, Totowa, Nueva Jersey, pág. 365-386).

RNA-Seq, también llamado Secuenciación de Transcriptoma Completo para Clonación al Azar ("WTSS en sus siglas en inglés) se refiere al uso de tecnologías de secuenciación de alto rendimiento para secuenciar el ADNc con el fin de obtener información sobre el contenido de ARN de una muestra. Las publicaciones que describen RNA-Seq incluyen: Wang et al., Nature Reviews Genetics 10(1): 57-63 (enero de 2009); Ryan et al. BioTechniques 45 (1): 81-94 (2008); y Maher et al., Nature 458 (7234): 97-101 (enero de 2009).

La expresión génica diferencial también se puede identificar o confirmar utilizando la técnica de micromatrices. En este método, las secuencias de polinucleótidos de interés (incluidos los ADNc y los oligonucleótidos) se colocan en placas o se disponen en un sustrato de microchip. A continuación, las secuencias dispuestas en matrices se hibridan con sondas de ADN específicas de células o tejidos de interés.

En una realización de la técnica de micromatrices, se aplican insertos de clones de ADNc amplificados por PCR a un sustrato en una matriz densa. Preferiblemente, se aplican al sustrato al menos 10.000 secuencias de nucleótidos. Los genes dispuestos en micromatrices, inmovilizados en el microchip a 10.000 elementos cada uno, son adecuados para la hibridación en condiciones rigurosas. Se pueden generar sondas de ADNc marcadas con fluorescencia mediante la incorporación de nucleótidos fluorescentes mediante transcripción inversa de ARN extraído de tejidos de interés. Las sondas de ADNc marcadas aplicadas al chip hibridan con especificidad con cada punto de ADN en la matriz. Después de un lavado riguroso para eliminar las sondas unidas de forma no específica, el chip se escanea mediante microscopía láser confocal o mediante otro método de detección, tal como una cámara CCD. La cuantificación de la hibridación de cada elemento en la matriz permite la evaluación de la correspondiente abundancia de ARNm. Con fluorescencia de color dual, las sondas de ADNc marcadas por separado generadas a partir de dos fuentes de ARN hibridan por pares con la matriz. Se determina así simultáneamente la abundancia relativa de los transcritos de las dos fuentes correspondientes a cada gen especificado. La escala miniaturizada de la hibridación permite una evaluación rápida y conveniente del patrón de expresión para un gran número de genes. Se ha demostrado que tales métodos tienen la sensibilidad necesaria para detectar transcritos raros, que se expresan en unas pocas copias por célula, y para detectar de forma reproducible al menos aproximadamente dos veces las diferencias en los niveles de expresión (Schena et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(2): 106-149 (1996)). El análisis de micromatrices se puede realizar con un equipo disponible comercialmente, siguiendo los protocolos del fabricante, tal como mediante el uso de la tecnología Affymetrix GENCHIP™ o la tecnología de micromatrices de Incyte.

El análisis en serie de expresión génica (SAGE) es un método que permite el análisis simultáneo y cuantitativo de una gran cantidad de transcritos de genes, sin la necesidad de proporcionar una sonda de hibridación individual para cada transcrito. Primero, se genera una etiqueta de secuencia corta (aproximadamente 10-14 pb) que contiene información suficiente para identificar de forma única un transcrito, siempre que la etiqueta se obtenga de una posición única dentro de cada transcrito. A continuación, muchos transcritos se unen para formar moléculas en serie largas, que se pueden secuenciar, revelando la identidad de las múltiples etiquetas simultáneamente. El patrón de expresión de cualquier población de transcritos se puede evaluar cuantitativamente determinando la abundancia de etiquetas individuales e identificando el gen correspondiente a cada etiqueta. Para obtener más detalles, véanse, p. ej. Velculescu et al. Science 270:484-487 (1995); y Velculescu et al., Cell 88:243-51 (1997).

La tecnología MassARRAY (Sequenom, San Diego, California) es un método automatizado de alto rendimiento de análisis de expresión génica que utiliza espectrometría de masas (MS) para la detección. Según este método, tras el aislamiento del ARN, la transcripción inversa y la amplificación por PCR, los ADNc se someten a extensión del cebador. Los productos de extensión de cebadores derivados del ADNc se purifican y dispensan sobre una matriz de chips que está precargada con los componentes necesarios para la preparación de la muestra MALDI-TOF MS. Los diversos ADNc presentes en la reacción se cuantifican analizando las áreas de los picos en el espectro de masas obtenido.

El nivel de ARNm también se puede medir mediante un ensayo basado en la hibridación. Un método de ensayo de ARNm típico puede contener las etapas de 1) obtener sondas del sujeto unidas a la superficie; 2) hibridar una población de ARNm con las sondas unidas a la superficie en condiciones suficientes para proporcionar la unión específica (3) hibridar con posterioridad los productos lavados para eliminar los ácidos nucleicos no unidos en la hibridación; y (4) detectar los ARNm hibridados. Los reactivos utilizados en cada uno de estas etapas y sus condiciones de uso pueden variar según la aplicación concreta.

Se puede utilizar cualquier plataforma de ensayo adecuada para determinar el nivel de ARNm en una muestra. Por ejemplo, un ensayo puede tener la forma de una varilla de medición, una membrana, un chip, un disco, una tira reactiva, un filtro, una microesfera, un portaobjetos, una placa de pocillos múltiples o una fibra óptica. Un sistema de ensayo puede tener un soporte sólido sobre el que se une un ácido nucleico correspondiente al ARNm. El soporte sólido puede tener,

por ejemplo, un plástico, silicio, un metal, una resina, vidrio, una membrana, una partícula, un precipitado, un gel, un polímero, una lámina, una esfera, un polisacárido, un capilar, una película, una placa o un portaobjetos. Los componentes del ensayo se pueden preparar y empaquetar juntos como un kit para detectar un ARNm.

El ácido nucleico se puede marcar, si se desea, para preparar una población de ARNm marcados. En general, una muestra se puede marcar utilizando métodos que son bien conocidos en la técnica (p. ej., utilizando ADN ligasa, transferasa terminal, o marcando la cadena principal del ARN, etc.; véanse, p. ej., Ausubel, et al., *Short Protocols in Molecular Biology*, 3ª ed., Wiley & Sons 1995 y Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, tercera edición, 2001 Cold Spring Harbor, Nueva York). En algunas realizaciones, la muestra se marca con una marca fluorescente. Los colorantes fluorescentes ilustrativos incluyen, pero sin limitarse a, colorantes de xanteno, colorantes de fluoresceína, colorantes de rodamina, isotiocianato de fluoresceína (FITC), 6-carboxifluoresceína (FAM), 6-carboxi-2',4',7',4,7-hexaclorofluoresceína (HEX), 6-carboxi-4',5'-dicloro-2',-7'-dimetoxifluoresceína (JOE o J), N,N,N',N'-tetrametil-6-carboxi-rodamina (TAMRA o T), 6-carboxi-X-rodamina (ROX o R), 5-carboxi-rodamina 6G (R6G5 o G5), 6-carboxi-rodamina 6G (R6G6 o G6) y rodamina 110; colorantes de cianina, p. ej. colorantes Cy3, Cy5 y Cy7; colorantes Alexa, p. ej. Alexa-fluor-555; cumarina, Dietilaminocumarina, umbeliferona; colorantes de bencimida, p. ej. Hoechst 33258; colorantes de fenantridina, p. ej. Rojo Texas; colorantes de etidio; colorantes de acridina; colorantes de carbazol; colorantes de fenoxazina; colorantes de porfirina; colorantes de polimetina, colorantes BODIPY, colorantes de quinolina, Pireno, Fluoresceína Clorotriazinilo, R110, Eosina, JOE, R6G, Tetrametilrodamina, Lisamina, ROX, Naftofluoresceína y similares.

La hibridación se puede llevar a cabo en condiciones de hibridación adecuadas, cuya rigurosidad puede variar según se desee. Las condiciones típicas son suficientes para producir complejos de sonda/diana en una superficie sólida entre miembros de unión complementarios, es decir, entre las sondas del sujeto unidas a la superficie y los ARNm complementarios en una muestra. En ciertas realizaciones, se pueden emplear condiciones de hibridación rigurosas.

La hibridación se realiza típicamente bajo condiciones de hibridación rigurosas. Las técnicas de hibridación convencionales (p. ej., en condiciones suficientes para proporcionar la unión específica de los ARNm diana en la muestra a las sondas) son descritas por Kallioniemi et al., *Science* 258:818-821 (1992) y el documento WO 93/18186. Se encuentran disponibles varias guías de técnicas generales, p. ej., Tijssen, *Hybridization with Nucleic Acid Probes*, Partes I y II (Elsevier, Amsterdam 1993). Para obtener descripciones de técnicas adecuadas para hibridaciones *in situ*, véanse Gall et al. *Meth. Enzymol.*, 21:470-480 (1981); y Angerer et al. en *Genetic Engineering: Principles and Methods* (Setlow y Hollaender, Eds.) Vol 7, pag. 43-65 (Plenum Press, Nueva York 1985). La selección de las condiciones apropiadas, incluida la temperatura, la concentración de sal, la concentración de polinucleótidos, el tiempo de hibridación, la rigurosidad de las condiciones de lavado y similares, dependerá del diseño experimental, incluida la fuente de la muestra, la identidad de los agentes de captura, el grado de complementariedad esperado, etc., y puede determinarse como una cuestión de experimentación rutinaria para los expertos en la técnica. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente que se pueden utilizar condiciones de hibridación y lavado alternativas pero comparables para proporcionar condiciones de rigurosidad similares.

Después del procedimiento de hibridación del ARNm, los polinucleótidos unidos a la superficie se lavan típicamente para eliminar los ácidos nucleicos no unidos. El lavado se puede realizar utilizando cualquier protocolo de lavado conveniente, donde las condiciones de lavado son típicamente rigurosas, como se describió anteriormente. A continuación, se detecta la hibridación de los ARNm diana con las sondas utilizando técnicas convencionales.

Se puede utilizar cualquier método como se describe en el presente documento o conocido en la técnica para determinar el nivel de ARNm de un gen en una muestra de un sujeto descrito en el presente documento. A modo de ejemplo, en algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de ARNm del gen CXCL12 en una muestra del sujeto utilizando qRT-PCR, y administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de ARNm del gen CXCL12 en la muestra es superior al nivel de expresión de referencia del gen CXCL12.

En algunas realizaciones, los métodos para tratar el AITL que expresa CXCL12 en un sujeto con tipifarnib, los métodos para pronosticar la capacidad de respuesta de un sujeto que tiene AITL para un tratamiento con tipifarnib, los métodos para seleccionar un paciente de AITL para un tratamiento con tipifarnib, los métodos para estratificar pacientes de AITL para un tratamiento con tipifarnib, y los métodos para aumentar la capacidad de respuesta de una población de pacientes de AITL a un tratamiento con tipifarnib incluyen adicionalmente determinar el nivel de expresión de un marcador de AITL seleccionado del grupo que consiste en CXCL13 y PD-1, en una muestra de un sujeto que tiene AITL, en donde si el nivel de expresión del gen adicional en la muestra es más alto que un nivel de expresión de referencia, se pronostica que es probable que el sujeto responda a un tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el estado de SNV de CXCL12 en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda al tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra no tiene la SNV rs2839695 de CXCL12 (A/G en la posición 44873849 en la región no traducida 3' (UTR) de CXCL12). En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda al tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra no tiene una SNV en la posición 44873186 de la UTR 3' de CXCL12. En algunas realizaciones, se pronostica que es probable

que un sujeto que tiene AITL responda al tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra no tiene una SNV en la UTR 3' de CXCL12. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

5 En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el estado de SNV de SIK3 en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda al tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra tiene una SNV en la secuencia codificante N-terminal de SIK3. En realizaciones específicas, la SNV en la secuencia codificante N-terminal es S986Y. En realizaciones específicas, la SNV en la secuencia codificante N-terminal es P1076R. En realizaciones específicas, la SNV en la secuencia codificante N-terminal es P1136R. En realizaciones específicas, la SNV en la secuencia codificante N-terminal es S1163G. En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda al tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra tiene una SNV de SIK3. En realizaciones específicas, la SNV de SIK3 es N559H. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

15 En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente determinar el estado de SNV de CENPF en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En algunas realizaciones, se pronostica que es probable que un sujeto que tiene AITL responda al tratamiento con tipifarnib, o se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib si la muestra tiene la variante del gen R2729Q. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

20 Los métodos para determinar el estado de SNV y/o mutación mediante el análisis de ácidos nucleicos son bien conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, los métodos incluyen secuenciación, Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), micromatrices de ADN, Espectrometría de Masas (MS), ensayo de Polimorfismo de un Solo Nucleótido (SNP), cromatografía líquida de alto rendimiento desnaturalizante (DHPLC) o ensayo de Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP). En algunas realizaciones, el estado de SNV y/o mutación se determina utilizando métodos de secuenciación convencionales, que incluyen, por ejemplo, secuenciación de Sanger, secuenciación de próxima generación (NGS). En algunas realizaciones, el estado de SNV y/o mutación se determina utilizando MS.

25 En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión de la proteína CXCL12 en una muestra de un sujeto que tiene AML y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de expresión de la proteína CXCL12 en la muestra es superior al nivel de referencia de proteína CXCL12. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV.

30 En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de expresión de la proteína KIR3DL2 en una muestra de un sujeto que tiene PTCL y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de expresión de la proteína KIR3DL2 en la muestra es menor que un nivel de referencia de proteína KIR3DL2. En ciertas realizaciones, la expresión de la proteína KIR3DL2 se determina mediante IHC. En ciertas realizaciones, la expresión de la proteína KIR3DL2 se determina mediante FACS.

35 En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de proteína de un gen en una muestra de un sujeto que tiene AITL. En realizaciones específicas, el AITL es un AITL asociado con EBV. En algunas realizaciones, el nivel de proteína del gen se puede determinar mediante un ensayo de inmunohistoquímica (IHC), un ensayo de inmunotransferencia (IB), un ensayo de inmunofluorescencia (IF), citometría de flujo (FACS) o un Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA). El ensayo IHC puede ser tinción con H y E.

40 Los métodos para determinar un nivel de proteína de un gen en una muestra son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el nivel de proteína se puede determinar mediante un ensayo de inmunohistoquímica (IHC), un ensayo de inmunotransferencia (IB), un ensayo de inmunofluorescencia (IF), citometría de flujo (FACS) o un Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA). En algunas realizaciones, el nivel de proteína se puede determinar mediante tinción con hematoxilina y eosina ("tinción con H y E").

45 El nivel de proteína del gen se puede detectar mediante una variedad de enfoques (IHC) u otros métodos de inmunoensayo. Se ha demostrado que la tinción IHC de secciones de tejido es un método fiable para evaluar o detectar la presencia de proteínas en una muestra. Las técnicas de inmunohistoquímica utilizan un anticuerpo para sondear y visualizar antígenos celulares in situ, generalmente mediante métodos cromogénicos o fluorescentes. Por tanto, para detectar la expresión se utilizan anticuerpos o antisueros, incluidos, por ejemplo, antisueros policlonales o anticuerpos monoclonales específicos para cada gen. Como se analiza con mayor detalle a continuación, los anticuerpos se pueden detectar marcando directamente los propios anticuerpos, por ejemplo, con marcas radiactivas, marcas fluorescentes, marcas de hapteno tales como biotina o una enzima tal como peroxidasa de rábano picante o fosfatasa alcalina. Alternativamente, el anticuerpo primario no marcado se utiliza junto con un anticuerpo secundario marcado, que comprende antisueros, antisueros policlonales o un anticuerpo monoclonal específico para el anticuerpo primario. Los kits y protocolos de inmunohistoquímica son bien conocidos en la técnica y están disponibles comercialmente. 50 Los sistemas automatizados para la preparación de portaobjetos y el procesamiento IHC están disponibles comercialmente. El sistema Ventana® BenchMark XT es un ejemplo de un sistema automatizado de este tipo.

Los procedimientos de inmunoensayos e inmunológicos convencionales se pueden encontrar en *Basic and Clinical Immunology* (Stites y Terr ed., 7ª ed. 1991). Además, los inmunoensayos se pueden realizar en cualquiera de varias

configuraciones, que se revisan ampliamente en *Enzyme Immunoassay* (Maggio, ed., 1980); y Harlow y Lane, más arriba. Para una revisión de los inmunoensayos generales, véanse también *Methods in Cell Biology: Antibodies in Cell Biology*, volumen 37 (Asai, ed. 1993); *Basic and Clinical Immunology* (Stites y Ten, eds., 7ª ed. 1991).

Los ensayos comúnmente utilizados para detectar el nivel de proteína de un gen incluyen ensayos no competitivos, p. ej., ensayos sándwich y ensayos competitivos. Típicamente, se puede utilizar un ensayo tal como un ensayo ELISA. Los ensayos ELISA son conocidos en la técnica, p. ej., para analizar una amplia variedad de tejidos y muestras, que incluyen sangre, plasma, suero, una biopsia de tumor, un ganglio linfático o médula ósea.

Se encuentra disponible una amplia gama de técnicas de inmunoensayo que utilizan tal formato de ensayo, véanse, p. ej., las Patentes de Estados Unidos Núm. 4.016.043, 4.424.279, y 4.018.653. Estos incluyen ensayos de un solo sitio y de dos sitios o "sándwich" de los tipos no competitivos, así como en los ensayos de unión competitiva tradicionales. Estos ensayos también incluyen la unión directa de un anticuerpo marcado a un gen diana. Los ensayos sándwich son ensayos de uso común. Existe una serie de variaciones de la técnica de ensayo sándwich. Por ejemplo, en un ensayo directo típico, un anticuerpo no marcado se inmoviliza sobre un sustrato sólido y la muestra que se va a analizar se pone en contacto con la molécula unida. Después de un período de incubación adecuado, durante un período de tiempo suficiente para permitir la formación de un complejo anticuerpo-antígeno, se añade e incuba un segundo anticuerpo específico del antígeno, marcado con una molécula informadora capaz de producir una señal detectable, dejando tiempo suficiente para la formación de otro complejo de anticuerpo-antígeno-anticuerpo marcado. Cualquier material que no haya reaccionado se elimina por lavado y la presencia del antígeno se determina mediante la observación de una señal producida por la molécula informadora. Los resultados pueden ser cualitativos, mediante la simple observación de la señal visible, o se pueden cuantificar comparándolos con una muestra de control que contenga cantidades conocidas del gen.

Las variaciones en el ensayo directo incluyen un ensayo simultáneo, en el que tanto la muestra como el anticuerpo marcado se añaden simultáneamente al anticuerpo unido. Estos mecanismos son bien conocidos por los expertos en la técnica, incluidas las variaciones menores que serán fácilmente evidentes. En un ensayo tipo sándwich directo típico, un primer anticuerpo que tiene especificidad por el gen se une de forma covalente o pasiva a una superficie sólida. La superficie sólida puede ser vidrio o un polímero, siendo los polímeros más comúnmente utilizados celulosa, poli(acrilamida), nailon, poliestireno, poli(cloruro de vinilo) o polipropileno. Los soportes sólidos pueden estar en forma de tubos, cuentas, discos de microplacas o cualquier otra superficie adecuada para realizar un inmunoensayo. Los procedimientos de unión son bien conocidos en la técnica y generalmente consisten en unión covalente mediante entrecruzamiento o adsorción física, el complejo de polímero-anticuerpo se lava en preparación para la muestra de prueba. A continuación, se añade una alícuota de la muestra que se va a analizar al complejo en fase sólida y se incuba durante un período de tiempo suficiente (p. ej., de 2 a 40 minutos o durante la noche si es más conveniente) y en condiciones adecuadas (p. ej., de temperatura ambiente a 40°C) tal como entre 25°C y 32°C inclusive) para permitir la unión de cualquier subunidad presente en el anticuerpo. Después del período de incubación, la fase sólida de la subunidad del anticuerpo se lava y se seca y se incuba con un segundo anticuerpo específico para una parte del gen. El segundo anticuerpo está conectado a una molécula informadora que se utiliza para indicar la unión del segundo anticuerpo al marcador molecular.

En algunas realizaciones, se puede utilizar citometría de flujo (FACS) para detectar el nivel de proteína de un gen que se expresa sobre la superficie de las células. Los genes que son proteínas de superficie (tales como CXCR3) se pueden detectar utilizando anticuerpos contra estos genes. El citómetro de flujo detecta e informa de la intensidad del anticuerpo etiquetado con fluorocromo, que indica el nivel de expresión del gen. También se pueden observar proteínas citoplasmáticas no fluorescentes mediante tinción de células permeabilizadas. La tinción puede ser un compuesto de fluorescencia capaz de unirse a ciertas moléculas o un anticuerpo etiquetado con fluorocromo para unirse a la molécula de elección.

Un método alternativo implica inmovilizar el gen diana en la muestra y a continuación exponer la diana inmovilizada a un anticuerpo específico que puede estar marcado o no con una molécula informadora. Dependiendo de la cantidad de diana y la fuerza de la señal de la molécula informadora, una diana unida se puede detectar mediante marcaje directo con el anticuerpo. Alternativamente, un segundo anticuerpo marcado, específico del primer anticuerpo, se expone al complejo de diana-primer anticuerpo para formar un complejo terciario de diana-primer anticuerpo-segundo anticuerpo. El complejo es detectado por la señal emitida por una molécula informadora marcada.

En el caso de un inmunoensayo enzimático, se conjuga una enzima con el segundo anticuerpo, generalmente mediante glutaraldehído o peryodato. Sin embargo, como se reconocerá fácilmente, existe una amplia variedad de técnicas de conjugación diferentes, que están fácilmente disponibles para el experto en la técnica. Las enzimas comúnmente utilizadas incluyen peroxidasa de rábano picante, glucosa oxidasa, beta-galactosidasa y fosfatasa alcalina, y otras se describen en el presente documento. Los sustratos que se deben utilizar con las enzimas específicas se eligen generalmente para la producción, tras la hidrólisis por la enzima correspondiente, de un cambio de color detectable. Los ejemplos de enzimas adecuadas incluyen fosfatasa alcalina y peroxidasa. También es posible emplear sustratos fluorogénicos, que producen un producto fluorescente en lugar de los sustratos cromogénicos indicados anteriormente. En todos los casos, el anticuerpo marcado con enzima se añade al primer complejo de anticuerpo-marcador molecular, se deja que se una y a continuación se lava el exceso de reactivo. Después, se añade una solución que contiene el sustrato apropiado al complejo de anticuerpo-antígeno-anticuerpo. El sustrato

reaccionará con la enzima ligada al segundo anticuerpo, proporcionando una señal visual cualitativa, que puede cuantificarse adicionalmente, normalmente espectrofotométricamente, para proporcionar una indicación de la cantidad de gen que estaba presente en la muestra. Alternativamente, los compuestos fluorescentes, tales como la fluoresceína y la rodamina, se pueden acoplar químicamente a los anticuerpos sin alterar su capacidad de unión. Cuando se activa mediante la iluminación con luz de una longitud de onda particular, el anticuerpo marcado con fluorocromo adsorbe la energía luminosa, induciendo un estado de excitabilidad en la molécula, seguido de la emisión de la luz en un color característico detectable visualmente con un microscopio óptico. Como en el EIA, se permite que el anticuerpo marcado con fluorescencia se una al complejo de primer anticuerpo-marcador molecular. Después de lavar el reactivo no unido, el complejo terciario restante se expone a la luz de la longitud de onda apropiada, la fluorescencia observada indica la presencia del marcador molecular de interés. Los mecanismos de inmunofluorescencia y EIA están ambos muy bien establecidos en la técnica y se describen en el presente documento.

Se puede utilizar cualquier método como se describe en el presente documento o conocido en la técnica para determinar el nivel de proteína de un gen en una muestra de un sujeto descrito en el presente documento. A modo de ejemplo, en algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar el nivel de proteína de un gen CXCL12 en una muestra del sujeto utilizando un ensayo IF, y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si el nivel de proteína del gen CXCL12 en la muestra es más alto que el nivel de expresión de referencia del gen CXCL12.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen determinar la proporción de células que expresan KIR3DL2 en una muestra de un sujeto que tiene AITL y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de tipifarnib al sujeto si la proporción de células que expresan KIR3DL2 en la muestra es menor que un nivel de referencia.

Los métodos para analizar la constitución celular de una muestra de un sujeto son bien conocidos en la técnica, que incluyen, por ejemplo, un ensayo de inmunohistoquímica (IHC), un ensayo de inmunofluorescencia (IF) y citometría de flujo (FACS).

En algunas realizaciones, la constitución celular se determina mediante un ensayo IHC. En el presente documento se describe una variedad de ensayos de IHC. A modo de ejemplo, en algunas realizaciones, se puede realizar una tinción IHC en una sección de tejido desparafinado con un anticuerpo que se une a la proteína de interés, incubando durante la noche a 4°C, después de la peroxidación y el bloqueo de proteínas. La recuperación del epítipo por microondas en Tris/HCl 10 mM de pH 9 que contiene ácido etilendiaminotetraacético 1 mM se puede utilizar para el anticuerpo y el control negativo apropiado (sin anticuerpo primario) y los controles positivos (secciones de amígdalas o tumores de mama) se pueden teñir en paralelo con cada conjunto de tumor estudiado. Véase, p. ej., Iqbal et al., Blood 123(19): 2915-23 (2014).

En algunas realizaciones, la constitución celular se determina mediante citometría de flujo (FACS). Varios métodos de uso de FACS para identificar y enumerar subconjuntos de células T específicos son bien conocidos en la técnica y están disponibles comercialmente. Se pueden utilizar marcadores de superficie celular para identificar una población celular específica. Al evaluar el repertorio único de marcadores de superficie celular utilizando varios anticuerpos juntos, cada uno acoplado con fluorocromos diferentes, se puede identificar y cuantificar una población celular determinada. Las tecnologías disponibles incluyen la tecnología de citometría de flujo multicolor de BD Biosciences, la tecnología de inmunofenotipificación de citometría de flujo de Abcam, etc. Se pueden utilizar varias estrategias de análisis de datos y de acotamiento de subpoblaciones de interés para distinguir poblaciones de células.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen analizar la constitución celular de una muestra de sangre de un sujeto utilizando citometría de flujo.

Cualquier método para analizar los niveles de expresión (p. ej., el nivel de proteína o el nivel de ARNm) como se describe en el presente documento o de otro modo conocido en la técnica se puede utilizar para determinar el nivel del gen adicional en una muestra, tal como un ensayo IHC, un ensayo IB, un ensayo IF, FACS, ELISA, análisis de micromatrices de proteínas, qPCR, qRT-PCR, RNA-seq, análisis de micromatrices de ARN, SAGE, técnica MassARRAY, secuenciación de próxima generación o FISH.

B. Composiciones farmacéuticas

En algunas realizaciones, tipifarnib se encuentra en composiciones farmacéuticas que contienen cantidades terapéuticamente eficaces de tipifarnib y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables. En algunos ejemplos de referencia, un FTI es arglabin; alcohol perrillílico; SCH-66336; L778123; L739749; FTI-277; L744832; R208176; BMS 214662; AZD3409; o CP-609,754.

El FTI se puede formular en preparaciones farmacéuticas adecuadas tales como soluciones, suspensiones, comprimidos, comprimidos dispersables, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida o elixires, para administración oral o en soluciones o suspensiones estériles para administración oftálmica o parenteral, así como preparación de parches transdérmicos e inhaladores de polvo seco. Típicamente, el FTI se formula en composiciones farmacéuticas utilizando mecanismos y procedimientos bien conocidos en la técnica (véase, p. ej., Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, séptima edición de 1999).

En las composiciones, las concentraciones eficaces de FTI y las sales farmacéuticamente aceptables se mezclan con

un portador o vehículo farmacéuticos adecuados. En ciertas realizaciones, las concentraciones de tipifarnib en las composiciones son eficaces para el suministro de una cantidad, tras la administración, que trata, previene o mejora uno o más de los síntomas y/o la progresión del cáncer, incluidos cánceres hematológicos y tumores sólidos.

5 Las composiciones se pueden formular para la administración de dosificaciones únicas. Para formular una composición, la fracción en peso del FTI se disuelve, se suspende, se dispersa o se mezcla de otro modo en un vehículo seleccionado a una concentración eficaz de modo que se alivie o mejore la afección tratada. Los portadores o vehículos farmacéuticos adecuados para la administración de FTI incluyen cualquiera de tales portadores conocidos por los expertos en la técnica por ser adecuado para el modo de administración particular.

10 Además, el FTI se puede formular como el único ingrediente farmacéuticamente activo en la composición o se puede combinar con otros ingredientes activos. Las suspensiones liposómicas, que incluyen liposomas dirigidos a tejidos, tales como liposomas dirigidos a tumores, también pueden ser adecuadas como portadores farmacéuticamente aceptables. Estas se pueden preparar según métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, se pueden preparar formulaciones de liposomas como se conoce en la técnica. Brevemente, se pueden formar liposomas tales como vesículas multilamelares (MLV) secando fosfatidil colina de huevo y fosfatidil serina cerebral (razón molar 7:3) en el interior de un matraz. Se añade una solución de un FTI en solución salina tamponada con fosfato que carece de cationes divalentes (PBS) y se agita el matraz hasta que se dispersa la película lipídica. Las vesículas resultantes se lavan para eliminar el compuesto no encapsulado, se sedimentan mediante centrifugación y a continuación se resuspenden en PBS.

20 El FTI se incluye en el portador farmacéuticamente aceptable en una cantidad suficiente para ejercer un efecto terapéuticamente útil en ausencia de efectos secundarios indeseables en el paciente tratado. La concentración terapéuticamente eficaz se puede determinar empíricamente probando los compuestos en los sistemas in vitro e in vivo descritos en el presente documento y a continuación extrapolándolos para las dosificaciones para seres humanos.

25 La concentración de FTI en la composición farmacéutica dependerá de las tasas de absorción, distribución tisular, inactivación y excreción del FTI, las características fisicoquímicas del FTI, el esquema de dosificación y la cantidad administrada, así como otros factores conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, la cantidad que se suministra es suficiente para mejorar uno o más de los síntomas del cáncer, incluidos los cánceres hematopoyéticos y los tumores sólidos.

30 En ciertas realizaciones, una dosificación terapéuticamente eficaz debería producir una concentración sérica de ingrediente activo de aproximadamente 0,1 ng/mL a aproximadamente 50-100 µg/mL. En una realización, las composiciones farmacéuticas proporcionan una dosificación de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 2000 mg de compuesto por kilogramo de peso corporal por día. Las formas farmacéuticas unitarias se preparan para proporcionar de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg y en ciertas realizaciones, de aproximadamente 10 a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo esencial o una combinación de ingredientes esenciales por forma unitaria de dosificación.

35 El FTI se puede administrar de una vez o se puede dividir en varias dosis más pequeñas para administrar a intervalos de tiempo. Se entiende que la dosificación precisa y la duración del tratamiento están en función de la enfermedad que se está tratando y se pueden determinar empíricamente utilizando protocolos de prueba conocidos o por extrapolación de datos de prueba in vivo o in vitro. Cabe señalar que las concentraciones y los valores de dosificación también pueden variar con la gravedad de la afección que se vaya a aliviar. Se debe entender adicionalmente que para cualquier sujeto en particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse con el tiempo según la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración establecidos en el presente documento son sólo ilustrativos y no se pretende que limiten el alcance o la práctica de las composiciones reivindicadas.

45 Por tanto, las concentraciones o cantidades eficaces de uno o más de los compuestos descritos en el presente documento o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se mezclan con un portador o vehículo farmacéuticos adecuados para la administración sistémica, tópica o local para formar composiciones farmacéuticas. Los compuestos se incluyen en una cantidad eficaz para mejorar uno o más síntomas, o para tratar, retardar la progresión o prevenir. La concentración de compuesto activo en la composición dependerá de la absorción, la distribución tisular, la inactivación, las velocidades de excreción del compuesto activo, el programa de dosificación, la cantidad administrada, la formulación particular así como de otros factores conocidos por los expertos en la técnica.

50 Las composiciones están destinadas a ser administradas por una vía adecuada, que incluye, pero no se limita a, vía oral, parenteral, rectal, tópica y local. Para la administración oral, se pueden formular cápsulas y comprimidos. Las composiciones están en forma líquida, semilíquida o sólida y se formulan de una manera adecuada para cada vía de administración.

55 Las soluciones o suspensiones utilizadas para la aplicación parenteral, intradérmica, subcutánea o tópica pueden incluir cualquiera de los siguientes componentes: un diluyente estéril, tal como agua para inyectables, solución salina, aceite fijado, polietilenglicol, glicerina, propilenglicol, dimetilacetamida u otro solvente sintético; agentes antimicrobianos, tales como alcohol bencílico y metilparabenos; antioxidantes, tales como ácido ascórbico y bisulfito

de sodio; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); tampones, tales como acetatos, citratos y fosfatos; y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. Las preparaciones parenterales pueden encerrarse en ampollas, bolígrafos, jeringas desechables o viales de dosis única o múltiple elaborados a partir de vidrio, plástico u otro material adecuado.

- 5 En los casos en los que el FTI muestra una solubilidad insuficiente, se pueden utilizar métodos para solubilizar compuestos. Tales métodos son conocidos por los expertos en esta técnica e incluyen, pero sin limitarse a, el uso de co-disolventes, tales como dimetilsulfóxido (DMSO), el uso de tensioactivos, tales como TWEEN®, o la disolución en bicarbonato de sodio acuoso.

- 10 Al mezclar o añadir el compuesto o compuestos, la mezcla resultante puede ser una solución, suspensión, emulsión o similar. La forma de la mezcla resultante depende de varios factores, incluido el modo de administración pretendido y la solubilidad del compuesto en el portador o vehículo seleccionados. La concentración eficaz es suficiente para mejorar los síntomas de la enfermedad, trastorno o afección tratados y se puede determinar empíricamente.

- 15 Las composiciones farmacéuticas son para la administración a seres humanos y animales en formas de dosificación unitarias, tales como comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, soluciones o suspensiones parenterales estériles y soluciones o suspensiones orales y emulsiones de aceite y agua que contienen cantidades adecuadas de los compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los compuestos farmacéuticamente terapéuticamente activos y las sales de los mismos se formulan y administran en formas de dosificación unitarias o formas de dosificación múltiples. Las formas de dosis unitarias como se emplean en el presente documento se refieren a unidades físicamente discretas adecuadas para sujetos humanos y animales y empaquetadas individualmente como se conoce en la técnica. Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada del compuesto terapéuticamente activo suficiente para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el portador, vehículo o diluyente farmacéuticos requeridos. Los ejemplos de formas de dosis unitarias incluyen ampollas y jeringas y comprimidos o cápsulas empaquetados individualmente. Las formas de dosis unitarias se pueden administrar en fracciones o múltiplos de las mismas. Una forma de dosis múltiple es una pluralidad de formas de dosificación unitarias idénticas empaquetadas en un único recipiente para ser administradas en forma de dosis unitaria separada. Los ejemplos de formas de dosis múltiples incluyen viales, botes de comprimidos o cápsulas o frascos de 0,47 L (pintas) o 3,78 L (galones). Por tanto, la forma de dosis múltiple es un múltiplo de dosis unitarias que no están segregadas en el envase.

- 20 También se pueden preparar preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el compuesto, cuyas matrices están en forma de artículos moldeados, p. ej., películas, o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen parches de iontoforesis, poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(metacrilato de 2-hidroxietilo) o poli(alcohol vinílico)), polilactidas, copolímeros de ácido L-glutámico y L-glutamato de etilo, etileno-acetato de vinilo no degradable, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables tales como LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida) y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico. Mientras que los polímeros tales como etileno-acetato de vinilo y ácido láctico-ácido glicólico permiten la liberación de moléculas durante más de 100 días, ciertos hidrogeles liberan proteínas durante períodos de tiempo más cortos. Cuando el compuesto encapsulado permanece en el organismo durante mucho tiempo, se puede desnaturalizar o agregar como resultado de la exposición a la humedad a 37°C, lo que da como resultado una pérdida de actividad biológica y posibles cambios en su estructura. Se pueden diseñar estrategias racionales para la estabilización dependiendo del mecanismo de acción involucrado. Por ejemplo, si se descubre que el mecanismo de agregación es la formación de enlaces S-S intermoleculares a través del intercambio tio-disulfuro, la estabilización se puede lograr modificando los restos sulfhidrido, liofilizando a partir de soluciones ácidas, controlando el contenido de humedad, utilizando aditivos apropiados y desarrollando composiciones de matrices poliméricas específicas.

- 30 Se pueden preparar formas de dosificación o composiciones que contengan ingrediente activo en el intervalo de 0,005% a 100% estando el resto compuesto por un portador no tóxico. Para la administración oral, se forma una composición no tóxica farmacéuticamente aceptable mediante la incorporación de cualquiera de los excipientes normalmente empleados, tales como, por ejemplo, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, derivados de celulosa, croscarmelosa sódica, glucosa, sacarosa, carbonato de magnesio o sacarina de sodio. Tales composiciones incluyen soluciones, suspensiones, comprimidos, cápsulas, polvos y formulaciones de liberación sostenida, tales como, pero sin limitarse a, implantes y sistemas de suministro microencapsulados, y polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como colágeno, etileno-acetato de vinilo, polianhídridos, poli(ácido glicólico), poliortoésteres, ácido poliláctico y otros. Los expertos en la técnica conocen métodos para la preparación de estas composiciones. Las composiciones pueden contener aproximadamente 0,001%-100% de ingrediente activo, en ciertas realizaciones, aproximadamente 0,1-85% o aproximadamente 75-95%.

- 55 El FTI o las sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar con portadores que protegen el compuesto contra la rápida eliminación del organismo, tales como formulaciones de liberación prolongada o recubrimientos.

- 60 Las composiciones pueden incluir otros compuestos activos para obtener las combinaciones de propiedades deseadas. Los compuestos, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como se describen en el presente documento, también se pueden administrar junto con otro agente farmacológico conocido en la técnica general por ser valioso en el tratamiento de una o más de las enfermedades o afecciones médicas mencionadas anteriormente,

tales como enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

Las composiciones sin lactosa pueden contener excipientes que son bien conocidos en la técnica y se enumeran, por ejemplo, en la Farmacopea de Estados Unidos (USP) SP (XXI)/NF (XVI). En general, las composiciones sin lactosa contienen un ingrediente activo, un aglutinante/carga y un lubricante en cantidades farmacéuticamente compatibles y farmacéuticamente aceptables. Las formas de dosificación sin lactosa ilustrativas contienen un ingrediente activo, celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado y estearato de magnesio.

Adicionalmente se divulgan composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras que contienen un compuesto divulgado en el presente documento. Por ejemplo, la adición de agua (p. ej., 5%) está ampliamente aceptada en las técnicas farmacéuticas como un medio para simular el almacenamiento a largo plazo con el fin de determinar características tales como la vida útil o la estabilidad de las formulaciones a lo largo del tiempo. Véase, p. ej., Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles and Practice*, 2ª. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, págs. 379-80. En efecto, el agua y el calor aceleran la descomposición de algunos compuestos. Por tanto, el efecto del agua sobre una formulación puede ser de gran importancia, ya que la hidratación y/o la humedad se encuentran comúnmente durante la fabricación, manipulación, envasado, almacenamiento, envío y uso de las formulaciones.

Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras se pueden preparar utilizando ingredientes anhidros o que contienen poca humedad y condiciones de baja hidratación o baja humedad. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden lactosa y al menos un ingrediente activo que comprende una amina primaria o secundaria son anhidras si se espera un contacto sustancial con hidratación y/o humedad durante la fabricación, envasado y/o almacenamiento.

Se debe preparar y almacenar una composición farmacéutica anhidra de manera que se mantenga su naturaleza anhidra. Por consiguiente, las composiciones anhidras se envasan utilizando materiales que se sabe que evitan la exposición al agua, de modo que pueden incluirse en kits de formulario adecuados. Los ejemplos de envases adecuados incluyen, pero no se limitan a, láminas, plásticos, envases de dosis unitaria (p. ej., viales), envases tipo burbuja y envases en tiras herméticamente sellados.

Las formas de dosificación farmacéutica oral son sólidas, en gel o líquidas. Las formas de dosificación sólidas son comprimidos, cápsulas, gránulos y polvos a granel. Los tipos de comprimidos orales incluyen pastillas y comprimidos masticables, comprimidos que pueden tener un recubrimiento entérico, un recubrimiento de azúcar o un recubrimiento de película. Las cápsulas pueden ser cápsulas de gelatina dura o blanda, mientras que los gránulos y polvos pueden proporcionarse en forma no efervescente o efervescente con la combinación de otros ingredientes conocidos por los expertos en la técnica.

En ciertas realizaciones, las formulaciones son formas de dosificación sólidas, tales como cápsulas o comprimidos. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante; un diluyente; un agente disgregante; un lubricante; un deslizante; un agente edulcorante; y un agente aromatizante.

Los ejemplos de aglutinantes incluyen celulosa microcristalina, goma de tragacanto, solución de glucosa, mucílago de acacia, solución de gelatina, sacarosa y pasta de almidón. Los lubricantes incluyen talco, almidón, estearato de magnesio o calcio, lycopodio y ácido esteárico. Los diluyentes incluyen, por ejemplo, lactosa, sacarosa, almidón, caolín, sal, manitol y fosfato dicálcico. Los deslizantes incluyen, pero no se limitan a, dióxido de silicio coloidal. Los agentes disgregantes incluyen croscarmelosa sódica, glicolato de almidón sódico, ácido algínico, almidón de maíz, almidón de patata, bentonita, metilcelulosa, agar y carboximetilcelulosa. Los agentes colorantes incluyen, por ejemplo, cualquiera de los colorantes FD y C solubles en agua certificados aprobados, mezclas de los mismos; y colorantes FD y C insolubles en agua suspendidos en hidrato de alúmina. Los agentes edulcorantes incluyen sacarosa, lactosa, manitol y agentes edulcorantes artificiales tales como sacarina y cualquier número de sabores secados por pulverización. Los agentes aromatizantes incluyen aromas naturales extraídos de plantas tales como frutas y mezclas sintéticas de compuestos que producen una sensación agradable, tales como, pero sin limitarse a, menta piperita y salicilato de metilo. Los agentes humectantes incluyen monoestearato de propilenglicol, monooleato de sorbitán, monolaurato de dietilenglicol y polioxietilén lauril éter. Los recubrimientos eméticos incluyen ácidos grasos, grasas, ceras, goma laca, goma laca amoniacal y acetato ftalato de celulosa. Los recubrimientos de película incluyen hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, polietilenglicol 4000 y acetato ftalato de celulosa.

Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, esta puede contener, además del material del tipo anterior, un portador líquido tal como un aceite graso. Además, las formas unitarias de dosificación pueden contener otros varios materiales que modifican la forma física de la unidad de dosificación, por ejemplo, recubrimientos de azúcar y otros agentes entéricos. Los compuestos también se pueden administrar como un componente de un elixir, suspensión, jarabe, oblea, espolvoreable, goma de mascar o similares. Un jarabe puede contener, además de los compuestos activos, sacarosa como agente edulcorante y ciertos conservantes, tintes y colorantes y aromas.

Los portadores farmacéuticamente aceptables incluidos en los comprimidos son aglutinantes, lubricantes, diluyentes, agentes disgregantes, agentes colorantes, agentes aromatizantes y agentes humectantes. Los comprimidos con recubrimiento entérico, debido al recubrimiento entérico, resisten la acción del ácido del estómago y se disuelven o

- disgregan al pH neutro o alcalino en los intestinos. Los comprimidos recubiertos de azúcar son comprimidos a los que se aplican diferentes capas de sustancias farmacéuticamente aceptables. Los comprimidos recubiertos con película son comprimidos comprimidos que se han recubierto con un polímero u otro recubrimiento adecuado. Los comprimidos de compresión múltiples son comprimidos fabricados mediante más de un ciclo de compresión utilizando las sustancias farmacéuticamente aceptables mencionadas anteriormente. También se pueden utilizar agentes colorantes en las formas de dosificación anteriores. Los agentes aromatizantes y edulcorantes se utilizan en comprimidos comprimidos, recubiertos de azúcar, comprimidos de compresión múltiple y masticables. Los agentes aromatizantes y edulcorantes son especialmente útiles en la formación de comprimidos y pastillas masticables.
- Las formas de dosificación oral líquidas incluyen soluciones, emulsiones, suspensiones acuosas, soluciones y/o suspensiones reconstituidas a partir de gránulos no efervescentes y preparaciones efervescentes reconstituidas a partir de gránulos efervescentes. Las soluciones acuosas incluyen, por ejemplo, elixires y jarabes. Las emulsiones son de aceite en agua o de agua en aceite.
- Los elixires son preparaciones hidroalcohólicas transparentes, endulzadas. Los portadores farmacéuticamente aceptables utilizados en elixires incluyen disolventes. Los jarabes son soluciones acuosas concentradas de un azúcar, por ejemplo, sacarosa, y pueden contener un conservante. Una emulsión es un sistema de dos fases en el que un líquido se dispersa en forma de pequeños glóbulos en otro líquido. Los portadores farmacéuticamente aceptables utilizados en emulsiones son líquidos no acuosos, agentes emulsionantes y conservantes. Las suspensiones utilizan agentes de suspensión y conservantes farmacéuticamente aceptables. Las sustancias farmacéuticamente aceptables utilizadas en gránulos no efervescentes, para su reconstitución en una forma de dosificación oral líquida, incluyen diluyentes, edulcorantes y agentes humectantes. Las sustancias farmacéuticamente aceptables utilizadas en gránulos efervescentes, para su reconstitución en una forma de dosificación oral líquida, incluyen ácidos orgánicos y una fuente de dióxido de carbono. Los agentes colorantes y aromatizantes se utilizan en todas las formas de dosificación anteriores.
- Los disolventes incluyen glicerina, sorbitol, alcohol etílico y jarabe. Los ejemplos de conservantes incluyen glicerina, metil- y propilparabeno, ácido benzoico, benzoato de sodio y alcohol. Los ejemplos de líquidos no acuosos utilizados en emulsiones incluyen aceite mineral y aceite de semilla de algodón. Los ejemplos de agentes emulsionantes incluyen gelatina, goma arábiga, tragacanto, bentonita y tensioactivos tales como monooleato de polioxietilensorbitán. Los agentes de suspensión incluyen carboximetilcelulosa de sodio, pectina, tragacanto, goma Vee y goma arábiga. Los diluyentes incluyen lactosa y sacarosa. Los agentes edulcorantes incluyen sacarosa, jarabes, glicerina y agentes edulcorantes artificiales tales como sacarina. Los agentes humectantes incluyen monoestearato de propilenglicol, monooleato de sorbitán, monolaurato de dietilenglicol y polioxietilén lauril éter. Los ácidos orgánicos incluyen ácido cítrico y tartárico. Las fuentes de dióxido de carbono incluyen bicarbonato de sodio y carbonato de sodio. Los agentes colorantes incluyen cualquiera de los tintes FD y C solubles en agua certificados y aprobados, y mezclas de los mismos. Los agentes aromatizantes incluyen aromas naturales extraídos de plantas tales como frutas y mezclas sintéticas de compuestos que producen una sensación de sabor agradable.
- Para una forma de dosificación sólida, la solución o suspensión, por ejemplo, en carbonato de propileno, aceites vegetales o triglicéridos, se encapsulan en una cápsula de gelatina. Tales soluciones, y la preparación y encapsulación de las mismas, se describen en las Patentes de Estados Unidos Núm. 4.328.245; 4.409.239; y 4.410.545. Para una forma de dosificación líquida, la solución, por ejemplo, en polietilenglicol, se puede diluir con una cantidad suficiente de un portador líquido farmacéuticamente aceptable, p. ej., agua, para poder medirlo fácilmente para su administración.
- Alternativamente, se pueden preparar formulaciones orales líquidas o semisólidas disolviendo o dispersando el compuesto activo o la sal en aceites vegetales, glicoles, triglicéridos, ésteres de propilenglicol (p. ej., carbonato de propileno) y otros portadores similares, y encapsulando estas soluciones o suspensiones en cubiertas para cápsulas de gelatina dura o blanda. Otras formulaciones útiles incluyen, pero no se limitan a, aquellas que contienen un compuesto proporcionado en el presente documento, un mono- o polialquilenglicol dialquilado, que incluye, pero no se limita a, 1,2-dimetoximetano, diglima, triglima, tetraglima, dimetiléter de polietilenglicol 350, dimetiléter polietilenglicol 550, dimetiléter de polietilenglicol 750, en donde 350, 550 y 750 se refieren al peso molecular medio aproximado del polietilenglicol, y uno o más antioxidantes, tales como hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), galato de propilo, vitamina E, hidroquinona, hidroxycumarinas, etanolamina, lecitina, cefalina, ácido ascórbico, ácido málico, sorbitol, ácido fosfórico, ácido tiodipropiónico y sus ésteres, y ditiocarbamatos.
- Otras formulaciones incluyen, pero no se limitan a, soluciones alcohólicas acuosas que incluyen un acetal farmacéuticamente aceptable. Los alcoholes utilizados en estas formulaciones son cualquier disolvente miscible en agua farmacéuticamente aceptable que tenga uno o más grupos hidroxilo, que incluyen, pero no se limitan a, propilenglicol y etanol. Los acetales incluyen, pero no se limitan a, di(alquil inferior)acetales de alquil inferior aldehídos tales como dietilacetal de acetaldehído.
- En todas las realizaciones, las formulaciones de comprimidos y cápsulas se pueden recubrir como conocen los expertos en la técnica para modificar o mantener la disolución del ingrediente activo. Así, por ejemplo, se pueden recubrir con un recubrimiento convencional digestible entéricamente, tal como fenilsalicilato, ceras y acetato ftalato de celulosa.

Un FTI también se puede administrar mediante administración parenteral, generalmente caracterizada por inyección, ya sea por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa. Los inyectables se pueden preparar en formas

convencionales, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol o etanol. Además, si se desea, las composiciones farmacéuticas que se van a administrar también pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH, estabilizadores, potenciadores de la solubilidad y otros agentes similares, tales como por ejemplo acetato de sodio, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina y ciclodextrinas. También se contempla en el presente documento la implantación de un sistema de liberación lenta o de liberación sostenida, de modo que se mantenga un nivel constante de dosificación. Brevemente, un compuesto proporcionado en el presente documento se dispersa en una matriz interna sólida, p. ej., poli(metacrilato de metilo), poli(metacrilato de butilo), poli(cloruro de vinilo) plastificado o no plastificado, nailon plastificado, poli(tereftalato de etileno) plastificado, caucho natural, poliisopreno, poliisobutileno, polibutadieno, polietileno, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, cauchos de silicona, polidimetilsiloxanos, copolímeros de carbonato de silicona, polímeros hidrófilos tales como hidrogeles de ésteres de ácido acrílico y metacrílico, colágeno, poli(alcohol vinílico) entrecruzado y poli(acetato de vinilo) parcialmente hidrolizado entrecruzado, que está rodeado por una membrana polimérica externa, por ejemplo, polietileno, polipropileno, copolímeros de etileno/propileno, copolímeros de etileno/acrilato de etilo, copolímeros de etileno/acetato de vinilo, cauchos de silicona, polidimetilsiloxanos, caucho de neopreno, polietileno clorado, poli(cloruro de vinilo), copolímeros de cloruro de vinilo con acetato de vinilo, cloruro de vinilideno, etileno y propileno, tereftalato polietileno ionómero, caucho butílico, cauchos de epiclorhidrina, copolímero de etileno/alcohol vinílico, terpolímero de etileno/acetato de vinilo/alcohol vinílico y copolímero de etileno/viniloxietanol, que es insoluble en fluidos corporales. El compuesto se difunde a través de la membrana polimérica exterior en una etapa de control de la velocidad de liberación. El porcentaje de compuesto activo contenido en tales composiciones parenterales depende en gran medida de la naturaleza específica de las mismas, así como de la actividad del compuesto y las necesidades del sujeto.

La administración parenteral de las composiciones incluye administraciones intravenosa, subcutánea e intramuscular. Las preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones estériles listas para su inyección, productos solubles secos estériles, tales como polvos liofilizados, listos para ser combinados con un disolvente inmediatamente antes de su uso, incluyendo comprimidos hipodérmicos, suspensiones estériles listas para su inyección, productos insolubles secos estériles listos para ser combinado con un vehículo inmediatamente antes de su uso y emulsiones estériles. Las soluciones pueden ser acuosas o no acuosas.

Si se administran por vía intravenosa, los portadores adecuados incluyen solución salina fisiológica o solución salina tamponada con fosfato (PBS) y soluciones que contienen agentes espesantes y solubilizantes, tales como glucosa, polietilenglicol y polipropilenglicol y mezclas de los mismos.

Los portadores farmacéuticamente aceptables utilizados en preparaciones parenterales incluyen vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, tampones, antioxidantes, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersión, agentes emulsionantes, agentes secuestrantes o quelantes y otras sustancias farmacéuticamente aceptables.

Los ejemplos de vehículos acuosos incluyen Inyección de Cloruro de Sodio, Inyección de Ringer, Inyección de Dextrosa Isotónica, Inyección de Agua Estéril, Inyección de Dextrosa y Ringer con lactato añadido. Los vehículos parenterales no acuosos incluyen aceites fijados de origen vegetal, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de sésamo y aceite de cacahuete. Los agentes antimicrobianos en concentraciones bacteriostáticas o fungistáticas se deben añadir a las preparaciones parenterales envasadas en envases de dosis múltiples que incluyen fenoles o cresoles, mercuriales, alcohol bencílico, clorobutanol, ésteres de ácido metil- y propil-p-hidroxibenzoico, timerosal, cloruro de benzalconio y cloruro de bencetonio. Los agentes isotónicos incluyen cloruro de sodio y dextrosa. Los tampones incluyen fosfato y citrato. Los antioxidantes incluyen bisulfato de sodio. Los anestésicos locales incluyen hidrocloreto de procaína. Los agentes de suspensión y dispersión incluyen carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona. Los agentes emulsionantes incluyen Polisorbato 80 (TWEEN® 80). Un agente secuestrante o quelante de iones metálicos incluye EDTA. Los portadores farmacéuticos también incluyen alcohol etílico, polietilenglicol y propilenglicol para vehículos miscibles en agua e hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, ácido cítrico o ácido láctico para ajustar el pH.

La concentración de FTI se ajusta de modo que una inyección proporcione una cantidad eficaz para producir el efecto farmacológico deseado. La dosis exacta depende de la edad, el peso y el estado del paciente o animal, como se conoce en la técnica. Las preparaciones parenterales de dosis unitaria se envasan en una ampolla, un vial o una jeringa con una aguja. Todas las preparaciones para administración parenteral deben ser estériles, como se conoce y se practica en la técnica.

De manera ilustrativa, la infusión intravenosa o intraarterial de una solución acuosa estéril que contiene un FTI es un modo de administración eficaz. Otra realización es una solución o suspensión acuosa u oleosa estéril que contiene un material activo inyectado según sea necesario para producir el efecto farmacológico deseado.

Los inyectables están diseñados para administración local y sistémica. Típicamente, una dosificación terapéuticamente eficaz se formula para que contenga una concentración de al menos aproximadamente 0,1% p/p hasta aproximadamente 90% p/p o más, tal como más del 1% p/p del compuesto activo en el tejido o tejidos tratados.

El ingrediente activo se puede administrar de una vez o se puede dividir en varias dosis más pequeñas para su administración a intervalos de tiempo. Se entiende que la dosificación precisa y la duración del tratamiento son una función del tejido que se está tratando y se pueden determinar empíricamente utilizando protocolos de prueba conocidos o por extrapolación de datos de prueba in vivo o in vitro. Cabe señalar que las concentraciones y los valores de dosificación también pueden variar con la edad del individuo tratado. Se debe entender adicionalmente que para cualquier sujeto en particular, los regímenes de dosificación específicos se deben ajustar con el tiempo según la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las formulaciones, y que los intervalos de concentración establecidos en el presente documento son sólo ilustrativos y no se pretende que limiten el alcance o la práctica de las formulaciones reivindicadas.

El FTI se puede suspender en forma micronizada o en otra forma adecuada o se puede derivatizar para producir un producto activo más soluble o para producir un profármaco. La forma de la mezcla resultante depende de varios factores, incluido el modo de administración pretendido y la solubilidad del compuesto en el portador o vehículo seleccionados. La concentración eficaz es suficiente para mejorar los síntomas de la afección y se puede determinar empíricamente.

También son de interés en el presente documento los polvos liofilizados, que se pueden reconstituir para su administración como soluciones, emulsiones y otras mezclas. También se pueden reconstituir y formular como sólidos o geles.

El polvo liofilizado estéril se prepara disolviendo un FTI, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en un disolvente adecuado. El disolvente puede contener un excipiente que mejore la estabilidad u otro componente farmacológico del polvo o solución reconstituida, preparados a partir del polvo. Los excipientes que se pueden utilizar incluyen, pero no se limitan a, dextrosa, sorbital, fructosa, jarabe de maíz, xilitol, glicerina, glucosa, sacarosa u otro agente adecuado. El disolvente también puede contener un tampón, tal como citrato, fosfato de sodio o potasio u otro tampón conocido por los expertos en la técnica, en una realización, a aproximadamente un pH neutro. La subsiguiente filtración estéril de la solución seguida de liofilización en condiciones convencionales conocidas por los expertos en la técnica proporciona la formulación deseada. Generalmente, la solución resultante se distribuirá en viales para liofilización. Cada vial contendrá una dosificación única (que incluye pero no se limita a 10-1000 mg o 100-500 mg) o dosis múltiples del compuesto. El polvo liofilizado se puede almacenar en condiciones apropiadas, tal como entre aproximadamente 4°C y la temperatura ambiente.

La reconstitución de este polvo liofilizado con agua para inyectables proporciona una formulación para su uso en administración parenteral. Para la reconstitución, se añaden aproximadamente 1-50 mg, aproximadamente 5-35 mg o aproximadamente 9-30 mg de polvo liofilizado por mL de agua estéril u otro portador adecuado. La cantidad precisa depende del compuesto seleccionado. Tal cantidad se puede determinar empíricamente.

Las mezclas tópicas se preparan como se describe para la administración local y sistémica. La mezcla resultante puede ser una solución, suspensión, emulsión o similar y se formula como cremas, geles, ungüentos, emulsiones, soluciones, elixires, lociones, suspensiones, tinturas, pastas, espumas, aerosoles, irrigaciones, pulverizaciones, supositorios, vendajes, parches dérmicos o cualquier otra formulación adecuada para administración tópica.

El FTI o composición farmacéutica que tiene un FTI se pueden formular como aerosoles para aplicación tópica, tal como por inhalación (véase, p. ej., las Patentes de Estados Unidos Núm. 4.044.126, 4.414.209, y 4.364.923, que describen aerosoles para la administración de un esteroide útil para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, particularmente asma). Estas formulaciones para administración al tracto respiratorio pueden estar en forma de aerosol o solución para nebulizador, o como polvo microfino para insuflación, solo o combinado con un portador inerte tal como lactosa. En tal caso, las partículas de la formulación tendrán diámetros de menos de 50 micrómetros o menos de 10 micrómetros.

El FTI o composición farmacéutica que tiene un FTI se puede formular para aplicación local o tópica, tal como para aplicación tópica a la piel y membranas mucosas, tal como en el ojo, en forma de geles, cremas y lociones y para aplicación al ojo o para aplicación intracisternal o intraespinal. Se contempla la administración tópica para el suministro transdérmico y también para la administración a los ojos o mucosas, o para terapias de inhalación. También se pueden administrar soluciones nasales del compuesto activo solo o combinado con otros excipientes farmacéuticamente aceptables. Estas soluciones, en particular las destinadas a uso oftálmico, se pueden formular como soluciones isotónicas al 0,01% - 10%, pH de aproximadamente 5-7, con las sales apropiadas.

También se contemplan en el presente documento otras vías de administración, tales como parches transdérmicos y administración rectal. Por ejemplo, las formas de dosificación farmacéuticas para administración rectal son supositorios, cápsulas y comprimidos rectales para efecto sistémico. Los supositorios rectales utilizados en el presente documento representan cuerpos sólidos para inserción en el recto que se funden o ablandan a la temperatura corporal liberando uno o más ingredientes farmacológica o terapéuticamente activos. Las sustancias farmacéuticamente aceptables utilizadas en los supositorios rectales son bases o vehículos y agentes para elevar el punto de fusión. Los ejemplos de bases incluyen manteca de cacao (aceite de teobroma), gelatina de glicerina, carbowax (polioxietilenglicol) y mezclas apropiadas de mono-, di- y triglicéridos de ácidos grasos. Se pueden utilizar combinaciones de las diversas bases. Los agentes para elevar el punto de fusión de los supositorios incluyen esperma de ballena y cera. Los supositorios rectales se pueden preparar por el método de compresión o por moldeado. Un peso ilustrativo de un supositorio rectal es de aproximadamente 2 a 3 gramos. Los comprimidos y cápsulas para

administración rectal se fabrican utilizando la misma sustancia farmacéuticamente aceptable y mediante los mismos métodos que para las formulaciones para administración oral.

El FTI o composición farmacéutica que tiene un FTI proporcionado en el presente documento se puede administrar mediante medios de liberación controlada o mediante dispositivos de suministro que son bien conocidos por los expertos en la técnica. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las Patentes de Estados Unidos Núm.: 3.845.770; 3.916.899; 3.536.809; 3.598.123; y 4.008.719, 5.674.533, 5.059.595, 5.591.767, 5.120.548, 5.073.543, 5.639.476, 5.354.556, 5.639.480, 5.733.566, 5.739.108, 5.891.474, 5.922.356, 5.972.891, 5.980.945, 5.993.855, 6.045.830, 6.087.324, 6.113.943, 6.197.350, 6.248.363, 6.264.970, 6.267.981, 6.376.461, 6.419.961, 6.589.548, 6.613.358, 6.699.500 y 6.740.634. Tales formas de dosificación se pueden utilizar para proporcionar una liberación lenta o controlada del FTI utilizando, por ejemplo, hidropropilmetilcelulosa, otras matrices poliméricas, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, recubrimientos multicapa, micropartículas, liposomas, microesferas o una combinación de los mismos para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones variables. Las formulaciones de liberación controlada adecuadas conocidas por los expertos en la técnica, incluidas las descritas en el presente documento, se pueden seleccionar fácilmente para su uso con los ingredientes activos.

Todos los productos farmacéuticos de liberación controlada tienen el objetivo común de mejorar la terapia con medicamentos en comparación con la lograda por sus contrapartes no controladas. En una realización, el uso de una preparación de liberación controlada diseñada de manera óptima en el tratamiento médico se caracteriza porque se emplea un mínimo de sustancia farmacológica para curar o controlar la afección en una cantidad mínima de tiempo. En ciertas realizaciones, las ventajas de las formulaciones de liberación controlada incluyen una actividad prolongada del fármaco, una frecuencia de dosificación reducida y un mayor cumplimiento por parte del paciente. Además, las formulaciones de liberación controlada se pueden utilizar para afectar el tiempo de inicio de la acción u otras características, tales como los niveles sanguíneos del fármaco, y por tanto pueden afectar a la aparición de efectos secundarios (p. ej., adversos).

La mayoría de las formulaciones de liberación controlada están diseñadas para liberar inicialmente una cantidad de fármaco (ingrediente activo) que produce rápidamente el efecto terapéutico deseado y liberan de forma gradual y continua otras cantidades de fármaco para mantener este nivel de efecto terapéutico durante un período de tiempo prolongado. Para mantener este nivel constante de fármaco en el organismo, el fármaco se debe liberar de la forma de dosificación a una velocidad que reemplace la cantidad de fármaco que se metaboliza y excreta del organismo. La liberación controlada de un ingrediente activo puede estimularse mediante diversas condiciones que incluyen, pero no se limitan a, pH, temperatura, enzimas, agua u otras condiciones o compuestos fisiológicos.

En ciertas realizaciones, tipifarnib se puede administrar utilizando infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche transdérmico, liposomas u otros modos de administración. En una realización, se puede utilizar una bomba (véanse, Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989). En otra realización, se pueden utilizar materiales poliméricos. En otra realización más, se puede colocar un sistema de liberación controlada cerca de la diana terapéutica, es decir, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica (véase, p. ej., Goodson, Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, págs. 115-138 (1984).

En algunas realizaciones, se introduce un dispositivo de liberación controlada en un sujeto en las proximidades del sitio de activación inmunitaria inapropiada o un tumor. Otros sistemas de liberación controlada se analizan en la revisión de Langer (Science 249:1527-1533 (1990)). El F se puede dispersar en una matriz interna sólida, p. ej., poli(metacrilato de metilo), poli(metacrilato de butilo), poli(cloruro de vinilo) plastificado o no plastificado, nailon plastificado, tereftalato de polietileno plastificado, caucho natural, poliisopreno, poliisobutileno, polibutadieno, polietileno, copolímeros de etileno-acetato de vinil, caucho de silicona, polidimetilsiloxanos, copolímeros de carbonato de silicona, polímeros hidrófilos tales como hidrogeles de ésteres de ácido acrílico y metacrílico, colágeno, poli(alcohol vinílico) entrecruzado y poli(acetato de vinilo) parcialmente hidrolizado entrecruzado, que está rodeado por una membrana polimérica externa, p. ej., polietileno, polipropileno, copolímeros de etileno/propileno, copolímeros de etileno/acrilato de etilo, copolímeros de etileno/acetato de vinilo, cauchos de silicona, polidimetilsiloxanos, caucho de neopreno, polietileno clorado, poli(cloruro de vinilo), copolímeros de cloruro de vinilo con acetato de vinilo, cloruro de vinilideno, etileno y propileno, tereftalato de polietileno ionómero, caucho butílico, cauchos de clorhidrina, copolímero de etileno/alcohol vinílico, terpolímero de etileno/acetato de vinilo/alcohol vinílico y copolímero de etileno/viniloxietanol, que es insoluble en fluidos corporales. A continuación, el ingrediente activo se difunde a través de la membrana polimérica exterior en una etapa de control de la velocidad de liberación. El porcentaje de ingrediente activo contenido en tales composiciones parenterales depende en gran medida de la naturaleza específica de las mismas, así como de las necesidades del sujeto.

El FTI o composición farmacéutica de FTI se pueden envasar como artículos de fabricación que contienen material de envasado, un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo proporcionados en el presente documento, que se utilizan para el tratamiento, prevención o mejora de uno o más síntomas o progresión del cáncer, incluidos cánceres hematológicos y tumores sólidos, y una etiqueta que indica que el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se utilizan para el tratamiento, prevención o mejora de uno o más síntomas o progresión del cáncer, incluyendo cánceres hematológicos y tumores sólidos.

Los artículos de fabricación proporcionados en el presente documento contienen materiales de envasado. Los

materiales de envasado para su uso en el envasado de productos farmacéuticos son bien conocidos por los expertos en la técnica. Véanse, p. ej., las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.323.907, 5.052.558 y 5.033.252. Los ejemplos de materiales de envasado farmacéutico incluyen, entre otros, envases de tipo burbuja, frascos, tubos, inhaladores, bombas, bolsas, viales, recipientes, jeringas, bolígrafos, botellas y cualquier material de envasado adecuado para una formulación seleccionada y el modo de administración y tratamiento previstos. Se contempla una amplia gama de formulaciones de los compuestos y composiciones.

En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica que tiene tipifarnib se administra por vía oral o parenteral. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene tipifarnib como ingrediente activo y se administra por vía oral en una cantidad de 1 hasta 1500 mg/kg al día, ya sea como dosis única o subdividida en más de una dosis, o más particularmente en una cantidad de 10 a 1200 mg/kg al día. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene tipifarnib como ingrediente activo y se administra por vía oral en una cantidad de 100 mg/kg al día, 200 mg/kg al día, 300 mg/kg al día, 400 mg/kg al día, 500 mg/kg al día, 600 mg/kg al día, 700 mg/kg al día, 800 mg/kg al día, 900 mg/kg al día, 1000 mg/kg al día, 1100 mg/kg al día o 1200 mg/kg al día.

En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 200 a 1500 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 200 a 1200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 300 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 400 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 500 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 600 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 700 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 800 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 900 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1000 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1100 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 975, 1000, 1025, 1050, 1075, 1100, 1125, 1150, 1175 o 1200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1300 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1400 mg al día.

En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 200-1400 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 300 a 1200 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 300-900 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 600 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 700 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 800 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 900 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1000 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1100 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1200 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 975, 1000, 1025, 1050, 1075, 1100, 1125, 1150, 1175 o 1200 mg dos veces al día.

Como entendería un experto en la técnica, la dosificación varía dependiendo de la forma de dosificación empleada, el estado y la sensibilidad del paciente, la vía de administración y otros factores. La dosificación exacta la determinará el médico, a la luz de los factores relacionados con el sujeto que requiere tratamiento. La dosificación y la administración se ajustan para proporcionar niveles suficientes del ingrediente activo o para mantener el efecto deseado. Los factores que se pueden tener en cuenta incluyen la gravedad del estado de la enfermedad, la salud general del sujeto, la edad, el peso y el sexo del sujeto, la dieta, el tiempo y la frecuencia de administración, las combinaciones de fármacos, la sensibilidad a las reacciones y la tolerancia/respuesta a la terapia. Durante un ciclo de tratamiento, se puede variar la dosis diaria. En algunas realizaciones, se puede ajustar una dosificación inicial dentro de un ciclo de tratamiento. En algunas realizaciones, se puede titular una dosificación inicial dentro de un ciclo de tratamiento. La dosificación final puede depender de la aparición de toxicidad limitante de la dosis y otros factores. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 300 mg al día y se aumenta a una dosis máxima de 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg o 1200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 400 mg al día y se aumenta a una dosis máxima de 500 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg o 1200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 500 mg al día y se aumenta a una dosis máxima de 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg o 1200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 600 mg al día y se aumenta a una dosis máxima de 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg o 1200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 700 mg al día y se aumenta a una dosis máxima de 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg o 1200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 800 mg al día y se aumenta a una dosis máxima de 900 mg, 1000 mg, 1100 mg o 1200 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 900 mg al día y se aumenta a una dosis máxima de 1000 mg, 1100 mg o 1200 mg al día. El aumento de la dosis se puede realizar de una vez o por etapas. Por ejemplo, una dosis inicial de 600 mg al día se puede aumentar a una dosis final de 1000 mg al día aumentando en 100 mg por día en el transcurso de 4 días, o aumentando en 200 mg por día en el transcurso de 2 días o aumentando en 400 mg de una vez.

En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial relativamente alta y se ajusta a una dosis más

baja dependiendo de la respuesta del paciente y otros factores. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 1200 mg al día y se reduce a una dosis final de 1100 mg, 1000 mg, 900 mg, 800 mg, 700 mg, 600 mg, 500 mg, 400 mg o 300 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 1100 mg al día y se reduce a una dosis final de 1000 mg, 900 mg, 800 mg, 700 mg, 600 mg, 500 mg, 400 mg o 300 mg al día.

5 En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 1000 mg al día y se reduce a una dosis final de 900 mg, 800 mg, 700 mg, 600 mg, 500 mg, 400 mg o 300 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 900 mg al día y se reduce a una dosis final de 800 mg, 700 mg, 600 mg, 500 mg, 400 mg o 300 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis inicial de 800 mg al día y se reduce a una dosis final de 700 mg, 600 mg, 500 mg, 400 mg o 300 mg al día. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra

10 a una dosis inicial de 600 mg al día y se reduce a una dosis final de 500 mg, 400 mg o 300 mg al día. La reducción de la dosis se puede realizar de una vez o por etapas. En algunas realizaciones, tipifarnib es tipifarnib. Por ejemplo, una dosis inicial de 900 mg al día se puede reducir a una dosis final de 600 mg al día disminuyéndola en 100 mg por día en el transcurso de 3 días, o disminuyéndola en 300 mg de una vez.

Un ciclo de tratamiento puede tener una duración diferente. En algunas realizaciones, un ciclo de tratamiento puede ser de una semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses o 12 meses. En algunas realizaciones, un ciclo de tratamiento es de 4 semanas. Un ciclo de tratamiento puede tener un programa intermitente. En algunas realizaciones, un ciclo de tratamiento de 2 semanas puede tener una dosificación de 5 días seguida de un descanso de 9 días. En algunas realizaciones, un ciclo de tratamiento de 2 semanas puede tener una dosificación de 6 días seguida de un descanso de 8 días. En algunas realizaciones, un ciclo de tratamiento de 2 semanas puede tener una dosificación de 7 días seguida de un descanso de 7 días. En algunas realizaciones, un ciclo de tratamiento de 2 semanas puede tener una dosificación de 8 días seguida de un descanso de 6 días. En algunas realizaciones, un ciclo de tratamiento de 2 semanas puede tener una dosificación de 9 días seguida de un descanso de 5 días.

En algunas realizaciones, tipifarnib se administra diariamente durante 3 de 4 semanas en ciclos repetidos de 4 semanas. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra diariamente en semanas alternas (una semana con, una semana sin) en ciclos repetidos de 4 semanas. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 300 mg dos veces al día por vía oral durante 3 de 4 semanas en ciclos repetidos de 4 semanas. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 600 mg dos veces al día por vía oral durante 3 de 4 semanas en ciclos repetidos de 4 semanas. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 900 mg dos veces al día por vía oral en semanas alternas (una semana con, una semana sin) en ciclos repetidos de 4 semanas. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1200 mg dos veces al día por vía oral en semanas alternas (días 1-7 y 15-21 de ciclos repetidos de 28 días). En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a una dosis de 1200 mg dos veces al día por vía oral durante los días 1-5 y 15-19 de los ciclos repetidos de 28 días.

En algunas realizaciones, se puede adoptar un régimen de semana alterna de tipifarnib de 900 mg dos veces al día. Con el régimen, los pacientes reciben una dosis inicial de 900 mg, por vía oral, dos veces al día los días 1-7 y 15-21 de los ciclos de tratamiento de 28 días. En ausencia de toxicidades incontrolables, los sujetos pueden continuar recibiendo el tratamiento con tipifarnib hasta durante 12 meses. La dosis también se puede aumentar a 1200 mg dos veces al día si el sujeto tolera bien el tratamiento. También se pueden incluir reducciones escalonadas de la dosis de 300 mg para controlar las toxicidades emergentes del tratamiento relacionadas con el tratamiento.

En algunas otras realizaciones, tipifarnib se administra por vía oral a una dosis de 300 mg dos veces al día durante 21 días, seguida de 1 semana de descanso, en ciclos de tratamiento de 28 días (programa de 21 días; Cheng DT et al., *J Mol Diagn.* (2015) 17(3):251-64). En algunas realizaciones, se adopta una dosificación de 5 días que varía de 25 a 1300 mg dos veces al día seguida de un descanso de 9 días (programa de 5 días; Zujewski J., *J Clin Oncol.*, (2000) febrero; 18(4):927-41). En algunas realizaciones, se adopta una dosificación de dos veces al día de 7 días seguida de un descanso de 7 días (programa de 7 días; Lara PN Jr., *Anticancer Drugs.*, (2005) 16(3):317-21; Kirschbaum MH, *Leukemia.*, (2011) Octubre; 25(10):1543-7). En el programa de 7 días, los pacientes pueden recibir una dosis inicial de 300 mg dos veces al día con incrementos de dosis de 300 mg hasta una dosis máxima planificada de 1800 mg dos veces al día. En el estudio de programa de 7 días, los pacientes también pueden recibir tipifarnib dos veces al día los días 1-7 y los días 15-21 de ciclos de 28 días en dosis de hasta 1600 mg dos veces al día.

En estudios anteriores, se demostró que el FTI inhibe el crecimiento de tumores de mamíferos cuando se administra como un programa de dosificación de dos veces al día. Se encontró que la administración de un FTI en una sola dosis diaria durante uno a cinco días producía una marcada supresión del crecimiento tumoral que duraba al menos 21 días. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra en un intervalo de dosificación de 50 a 400 mg/kg. En algunas realizaciones, tipifarnib se administra a 200 mg/kg. El régimen de dosificación para FTI específicos también es bien conocido en la técnica (p. ej., Patente de Estados Unidos Núm. 6838467). Por ejemplo, las dosificaciones adecuadas para los compuestos Argabin (documento WO98/28303), alcohol perrilílico (documento WO 99/45712), SCH-66336 (Patente de Estados Unidos Núm. 5.874.442), L778123 (documento WO 00/01691), 2(S)-[2(S)-[2(R)-amino-3-mercapto]propilamino-3(S)-metil]-pentiloxi-3-fenilpropionil-metionina sulfona (documento WO94/10138), BMS 214662 (documento WO 97/30992), AZD3409; los compuestos A y B de Pfizer (documentos WO 00/12499 y WO 00/12498) se proporcionan en las memoria descriptiva de las patente antes mencionadas o son conocidos o pueden ser determinados fácilmente por un experto en la técnica.

Con relación al alcohol perrílico, el medicamento se puede administrar de 1 a 4 g por día por paciente humano de 68,04 kg (150 libras). En un ejemplo, 1-2 g por día por paciente humano de 68,04 kg (150 libras). SCH-66336 se puede administrar típicamente a una dosis unitaria de aproximadamente 0,1 mg a 100 mg, más preferiblemente de aproximadamente 1 mg a 300 mg según la aplicación particular. Los compuestos L778123 y 1-(3-clorofenil)-4-[1-(4-cianobencil)-5-imidazolilmetil]-2-piperazinona se pueden administrar a un paciente humano en una cantidad entre aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por día, preferiblemente entre 0,5 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día.

Los compuestos A y B de Pfizer se pueden administrar a dosificaciones que varían de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 500 mg por día, preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg por día en dosis únicas o divididas (es decir, múltiples). Los compuestos terapéuticos se administrarán normalmente a dosis diarias que oscilan entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal por día, en dosis únicas o divididas. BMS 214662 se puede administrar en un intervalo de dosificación de aproximadamente 0,05 a 200 mg/kg/día, preferiblemente menos de 100 mg/kg/día en una sola dosis o en 2 a 4 dosis divididas.

En algunas realizaciones, el tratamiento con tipifarnib se administra combinado con radioterapia o terapia de radiación. La radioterapia incluye el uso de rayos γ , rayos X y/o el suministro dirigido de radioisótopos a las células tumorales. También se contemplan otras formas de factores que dañan el ADN, tales como microondas, irradiación con haz de protones (Patentes de Estados Unidos Núm. 5.760.395 y 4.870.287) e irradiación UV. Es muy probable que todos estos factores afecten a una amplia gama de daños en el ADN, en los precursores del ADN, en la replicación y reparación del ADN y en el ensamblaje y mantenimiento de los cromosomas.

En algunas realizaciones, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica que tiene tipifarnib que sensibiliza eficazmente un tumor en un anfitrión a la irradiación (Patente de Estados Unidos Núm. 6545020). La irradiación puede ser una radiación ionizante y, en particular, una radiación gamma. En algunas realizaciones, la radiación gamma es emitida por aceleradores lineales o por radionúclidos. La irradiación del tumor por radionúclidos puede ser externa o interna.

La irradiación también puede ser radiación de rayos X. Los intervalos de dosificación para los rayos X varían de dosis diarias de 50 a 200 roentgens durante períodos prolongados de tiempo (3 a 4 semanas), a dosis únicas de 2000 a 6000 roentgens. Los intervalos de dosificación para radioisótopos varían ampliamente y dependen de la vida media del isótopo, la fuerza y el tipo de radiación emitida y la captación por las células neoplásicas.

En algunas realizaciones, la administración de la composición farmacéutica comienza hasta un mes, en particular hasta 10 días o una semana, antes de la irradiación del tumor. Además, la irradiación del tumor se fracciona y la administración de la composición farmacéutica se mantiene en el intervalo entre la primera y la última sesión de irradiación.

La cantidad de FTI, la dosis de irradiación y la intermitencia de las dosis de irradiación dependerán de una serie de parámetros tales como el tipo de tumor, su localización, la reacción del paciente a la quimio- o radioterapia y en definitiva son determinados por el médico y radiólogo en cada caso individual.

C. Terapia combinada

En algunas realizaciones, los métodos incluyen adicionalmente la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un segundo agente activo o una terapia asistencial de apoyo. El segundo agente activo puede ser un agente quimioterapéutico. Un agente o fármaco quimioterapéuticos se pueden clasificar por su modo de actividad dentro de una célula, por ejemplo, si afectan al ciclo celular y en qué fase. Alternativamente, un agente se puede caracterizar basándose en su capacidad para entrecruzar directamente el ADN, intercalarse en el ADN o inducir aberraciones cromosómicas y mitóticas al afectar a la síntesis de ácidos nucleicos.

Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes, tales como tiotepa y ciclosfosfamida; alquil sulfonatos, tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas, tales como benzodopa, carbocadona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietileniofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); una camptotecina (que incluye el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluidos sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluidos los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas de nitrógeno, tales como clorambucilo, clornafazina, ciclofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, hidrocloreto de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida y mostaza de uracilo; nitrosureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos, tales como los antibióticos enedina (p. ej., caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gamma II y caliqueamicina omega II); dinemicina, incluida dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; una esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos antibióticos de la cromoproteína enedina relacionados, aclacinomisinas, actinomicina, antramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucona, doxorubicina (incluyendo morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina y desoxidoxorrubicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina,

mitomicinas, tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalarmicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina y zorrubicina; antimetabolitos, tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico, tales como denopterina, pteropterina y trimetrexato; análogos de purina, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiampirina y tioguanina; análogos de pirimidina, tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina y floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano y testolactona; anti-adrenales, tales como mitotano y trilostano; reponedor de ácido fólico, tal como ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamide; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elformitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglucid; nitrato de galio; hidroxiaurea; lentinan; lonidainina; maitansinoides, tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo de polisacárido PSK; razoxano; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamide; taxoides, por ejemplo, paclitaxel y docetaxel gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; complejos de coordinación de platino, tales como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamide; mitoxantrona, vincristina, vinorelbina; novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; irinotecán (p. ej., CPT-11); inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides, tales como ácido retinoico; capecitabina; carboplatino, procarbazona, plicomicina, gemcitabina, navelbina, transplatino y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Los segundos agentes activos pueden ser moléculas grandes (p. ej., proteínas) o moléculas pequeñas (p. ej., moléculas sintéticas inorgánicas, organometálicas u orgánicas). En algunas realizaciones, el segundo agente activo es un agente hipometilante de ADN, un anticuerpo terapéutico que se une específicamente a un antígeno canceroso, un factor de crecimiento hematopoyético, una citocina, un agente anticanceroso, un antibiótico, un inhibidor de la cox-2, un agente inmunomodulador, un globulina anti-timocitos, un agente inmunosupresor, un corticosteroide o un mutante o derivado farmacológicamente activos de los mismos.

En algunas realizaciones, el segundo agente activo es un agente hipometilante de ADN, tal como un análogo de citidina (p. ej., azacitidina) o una 5-azadesoxicitidina (p. ej. decitabina). En algunas realizaciones, el segundo agente activo es un agente citorreductor, que incluye, pero sin limitarse a, Induction, Topotecán, Hydrea, Etopósido PO, Lenalidomida, LDAC y Tioguanina. En algunas realizaciones, el segundo agente activo es Mitoxantrona, Etopósido, Citarabina o Valspodar. En alguna realización, el segundo agente activo es Mitoxantrona más Valspodar, Etopósido más Valspodar o Citarabina más Valspodar. En alguna realización, el segundo agente activo es idarrubicina, fludarabina, topotecán o ara-C. En algunas otras realizaciones, el segundo agente activo es idarrubicina más ara-C, fludarabina más ara-C, mitoxantrona más ara-C o topotecán más ara-C. En algunas realizaciones, el segundo agente activo es una quinina. Se pueden utilizar otras combinaciones de los agentes especificados anteriormente, y las dosificaciones pueden ser determinadas por el médico.

Para cualquier tipo de cáncer específico descrito en el presente documento, los tratamientos descritos en el presente documento o disponibles de otro modo en la técnica se pueden utilizar combinados con el tratamiento con FTI. Por ejemplo, los fármacos que se pueden utilizar combinados con el FTI para PTCL incluyen belinostat (Beleodaq®) y pralatrexato (Folotyn®), comercializados por Spectrum Pharmaceuticals, romidepsina (Istodax®), comercializado por Celgene, y brentuximab vedotin (Adcetris®) (para ALCL), comercializado por Seattle Genetics; los fármacos que se pueden utilizar combinados con FTI para MDS incluyen azacitidina (Vidaza®) y lenalidomida (Revlimid®), comercializados por Celgene, y decitabina (Dacogen®) comercializado por Otsuka y Johnson & Johnson; los fármacos que se pueden utilizar combinados con el FTI para el cáncer de tiroides incluyen vandetanib de AstraZeneca (Caprelsa®), sorafenib de Bayer (Nexavar®), cabozantinib de Exelixis (Cometriq®) y lenvatinib de Eisai (Lenvima®).

Las terapias no citotóxicas tales como pralatrexato (Folotyn®), romidepsina (Istodax®) y belinostat (Beleodaq®) también se pueden utilizar combinadas con el tratamiento con FTI.

En algunas realizaciones, se contempla que el segundo agente activo o la segunda terapia utilizados combinados con tipifarnib se puedan administrar antes, al mismo tiempo o después del tratamiento con FTI. En algunas realizaciones, el segundo agente activo o la segunda terapia utilizados combinados con tipifarnib se pueden administrar antes del tratamiento con FTI. En algunas realizaciones, el segundo agente activo o la segunda terapia utilizados combinados con tipifarnib se pueden administrar al mismo tiempo que el tratamiento con FTI. En algunas realizaciones, el segundo agente activo o la segunda terapia utilizados combinados con tipifarnib se pueden administrar después del tratamiento con FTI.

El tratamiento con FTI también se puede administrar combinado con un trasplante de médula ósea. En algunas realizaciones, el FTI se administra antes del trasplante de médula ósea. En otras realizaciones, el FTI se administra después del trasplante de médula ósea.

Un experto con un conocimiento normal de la técnica entendería que los métodos descritos en el presente documento incluyen el uso de cualquier permutación o combinación de tipifarnib específico, formulación, régimen de dosificación, terapia adicional para tratar a un sujeto descrito en el presente documento.

En algunas realizaciones, el sujeto que tiene AITL que se selecciona para el tratamiento con tipifarnib recibe una dosis de 900 mg dos veces al día por vía oral en semanas alternas (una semana con, una semana sin) en ciclos repetidos de 4 semanas.

- 5 En algunas realizaciones, el sujeto que tiene AITL que se selecciona para el tratamiento con tipifarnib recibe una dosis de 600 mg dos veces al día por vía oral en semanas alternas (una semana con, una semana sin) en ciclos repetidos de 4 semanas.

Se entiende que las modificaciones que no afectan sustancialmente a la actividad de las diversas realizaciones de esta invención también se proporcionan dentro de la definición de la invención proporcionada en el presente documento. Por consiguiente, se pretende que los siguientes ejemplos ilustren pero no limiten la presente invención. 10 El FTI para el propósito de la presente invención es tipifarnib. Otros FTI se divulgan en el presente documento como referencia. En el contexto de la presente invención, la enfermedad a tratar es AITL. Otras enfermedades se divulgan en el presente documento como referencia.

Ejemplo I

Estudio clínico de tipifarnib en pacientes con PTCL

- 15 Se puede realizar un estudio clínico de fase II de tipifarnib con el objetivo principal de evaluar la actividad antitumoral de tipifarnib, en términos de tasa de respuesta objetiva (TRO) en sujetos con linfoma periférico de células T (PTCL) avanzado en recaída o refractario. La determinación de la respuesta objetiva del tumor se puede realizar mediante los Criterios del Taller Internacional (IWC) y/o la enfermedad cutánea medible según la Herramienta de Evaluación Ponderada de Gravedad modificada (mSWAT). Los objetivos secundarios pueden incluir acceder al efecto de tipifarnib 20 sobre la tasa de supervivencia libre de progresión (SLP) en 1 año, la duración de la respuesta (DDR), la supervivencia global (SG); y la seguridad y tolerabilidad de tipifarnib.

Este estudio de Fase II investiga la actividad antitumoral en términos de TRO de tipifarnib en sujetos con PTCL. Se inscriben hasta 18 sujetos elegibles con PTCL avanzado. El número total de pacientes se puede ampliar a 30.

- 25 Los sujetos reciben tipifarnib administrado a una dosis inicial de 900 mg, por vía oral con alimento, dos veces al día (bid) durante 7 días en semanas alternas (días 1-7 y 15-21) en ciclos de 28 días. A discreción del investigador, la dosis de tipifarnib se puede aumentar a 1200 mg dos veces al día si el sujeto no ha experimentado toxicidades limitantes de la dosis al nivel de dosis de 900 mg. Los sujetos que desarrollen eventos adversos graves (EAG) o eventos adversos emergentes del tratamiento (EAET) de grado ≥ 2 que se consideren relacionados con tipifarnib y que duren ≥ 14 días no se someterán a un aumento de la dosis. También se permiten reducciones escalonadas de dosis de 300 mg para 30 controlar las toxicidades emergentes del tratamiento relacionadas con el tratamiento.

En ausencia de toxicidades incontrolables, los sujetos pueden continuar recibiendo tratamiento con tipifarnib hasta la progresión de la enfermedad. Si se observa una respuesta completa, la terapia con tipifarnib se puede mantener durante al menos 6 meses después del inicio de la respuesta.

- 35 Las evaluaciones de los tumores se realizan en el escrutinio y al menos una vez cada aproximadamente 8 semanas durante 6 meses (ciclos 2, 4, 6) y una vez cada aproximadamente 12 semanas (ciclos 9, 12, 15, etc.) a partir de entonces, hasta la progresión de la enfermedad, comenzando al final del Ciclo 2. Se pueden realizar evaluaciones tumorales adicionales si el Investigador lo considera necesario. Los sujetos que interrumpen el tratamiento con tipifarnib por razones distintas a la progresión de la enfermedad deben continuar las evaluaciones del tumor hasta la progresión de la enfermedad, retirada del consentimiento del sujeto para el estudio.

40 Ejemplo II

Evidencia de actividad en el estudio clínico de tipifarnib en pacientes con PTCL

Se estudió la evidencia de actividad clínica en una cohorte de pacientes incluidos en el estudio descrito en el Ejemplo I. Se observaron respuestas duraderas (mediana de 11 meses) en 4 de 8 pacientes con PTCL.

- 45 El estudio fue un estudio de Fase II de dieciocho pacientes con un diseño de dos etapas de Simon (11 + 7). Se requirieron dos respuestas después de los primeros once pacientes evaluables para pasar a la segunda etapa. La inscripción se ampliará a treinta pacientes si se observan cinco respuestas en la primera etapa.

La dosis de 900 mg dos veces al día durante siete días en una dosificación en semanas alternas se modificó durante la primera etapa a 600 mg dos veces al día durante siete días en la dosificación en semanas alternas.

- 50 La FIG. 1 muestra el número de ciclos recibidos por cada uno de los dieciocho pacientes a los que se les administró la dosis en un primer momento durante el estudio. Cada uno de los dieciocho pacientes y el tipo de PTCL se enumeran en la Tabla 1, junto con los resultados. Se observaron tres respuestas parciales (RP). De los dos sujetos con AITL, ambos mostraron RP. Hay tres pacientes en curso, indicados por flechas en la FIG. 1, y dos pacientes han tenido más de seis meses de enfermedad estable.

Tabla 1. Resultados de los sujetos y características de expresión para el estudio clínico de tipifarnib en pacientes con PTCL.

Sujeto	Histología tumoral	SNV	Respuesta	Expresión CXCL12	Expresión CXCR4	Razón CXCL12/CXCR4	Expresión KIR3DL2	Expresión VCAM1	Expresión CXCL13
1	PTCL-NOS	rs2839695	EP						
2	PTCL-NOS	R2729Q en CENPF; Variante SIK3	EE	3728	9329	0.4	76	4785	424
3	AITL	Variante SIK3	RP	14076	1898	7.416	125	29134	1176
4	PTCL-NOS	SNV posición 44873186 UTR 3' CXCL12; R2729Q en CENPF	EP	1081	6408	0.169	58	5344	2088
5	ALCL-ALK	rs2839695; Variante SIK3	EP	1211	8637	0.14	2	546	10
6	PTCL-NOS	rs2839695	EP	834	10668	0.078	33625	5746	715
7	PTCL-NOS	rs2839695	EP	325	11282	0.029	18533	1255	47
8	PTCL-NOS	rs2839695	EP						
9	PTCL-NOS	N/A	EP						
10	PTCL-NOS	rs2839695; R2729Q en CENPF; Variante SIK3	EP	1570	8890	0.177	178	2874	16876
11	AITL	R2729Q en CENPF; Variante SIK3	RP	3265	9274	0.352	6	7359	25355
12	PTCL-NOS		EP	759	4866	0.156	2457	2328	303
13	PTCL-NOS	R2729Q en CENPF; Variante SIK3	EE						
14	PTCL-NOS		EP	613	6256	0.098	5	1776	351
15	PTCL-NOS	N/A	RP						
16	PTCL-NOS	rs2839695; Variante SIK3	EP	469	14617	0.032	6810	3643	4602
17	PTCL-NOS	R2729Q en CENPF; Variante SIK3	EE	1160	3811	0.304	29	1118	1039
18	PTCL-NOS	R2729Q en CENPF; Variante SIK3	EE	2659	3118	0.853	11	4111	1729

La FIG. 5 muestra el número de ciclos recibidos por cada uno de los dieciocho pacientes a los que se les administró la dosis en un segundo momento posterior durante el estudio. El tipo de PTCL y el estado de SNV se indican en la FIG. 5 para cada paciente, junto con los resultados. Se observaron tres respuestas parciales (RP). De los dos sujetos con AITL, ambos mostraron RP. Hay dos pacientes en curso, indicados por flechas en la FIG. 1, y cuatro pacientes han tenido más de seis meses de enfermedad estable.

Se obtuvieron muestras fijadas con formalina e incluidas en parafina (FFPE) de todos los sujetos para el análisis de la expresión génica utilizando RNA Seq y de la variación de un solo nucleótido (SNV, incluidos SNP y mutaciones) utilizando secuenciación de próxima generación (NGS). Trece muestras pasaron el control de calidad (CC) para el análisis de expresión. Dieciséis muestras pasaron el control de calidad para el análisis de SNV.

La expresión de CXCL12 y CXCR4, así como la razón de la expresión de CXCL12 con respecto a CXCR4, se midió en trece de los sujetos, como se muestra en la Tabla 1. Los sujetos con una razón CXCL12/CXCR4 superior a 0,200 tenían RP o enfermedad estable (EE). Los sujetos con una razón CXCL12/CXCR4 menor o igual a 0,200 no mostraron RP o EE, como se muestra en la Tabla 1. La mediana de supervivencia libre de progresión (mSLP) para pacientes con una razón CXCL12/CXCR4 > 0,200 fue de 189 días (N = 5), mientras que la mSLP para pacientes con una razón CXCL12/CXCR4 ≤ 0,200 fue de 51 días (N = 7), como se muestra en la FIG. 2 (HR = 0,22; P = 0,004). La expresión de VCAM1 y CXCL13 también se midió en esos trece sujetos.

Ocho sujetos (50%) de los dieciséis para los que NGS pasó el CC portaban SNV en la UTR 3' del gen CXCL12. Siete eran portadores de rs2839695 (A/G en la posición 44873849 en la UTR 3' de CXCL12). Un sujeto portaba tanto rs2839695 como una nueva SNV en la UTR 3' en la posición 44866733. Un sujeto adicional portaba una nueva SNV en la UTR 3' en la posición 44873186. Los tumores que portaban rs2839695 tenían menores razones de CXCL12/CXCR4, como se observa en la FIG. 3 y en la Tabla 1. El sujeto 4, que tenía la nueva SNV en la UTR 3' en la posición 44873186, presentó una razón CXCL12/CXCR4 muy baja. La frecuencia de SNV en UTR 3' (0,5) fue inusual. Las frecuencias esperadas de rs2839695 en la población general son las siguientes: 1000G_AFR = 0,2;

1000G_AMR = 0,097; 1000G_EAS = 0,001; 1000G_EUR = 0,2; 1000G_SAS = 0,045. rs2839695 en CXCL12 se asoció con un mal pronóstico en el PTCL tratado con tipifarnib, como se muestra en la FIG. 4. La mSLP para aquellos pacientes sin SNV en la UTR 3' de CXCL12 fue de 189 días (N = 8), mientras que los pacientes con rs2839695 en CXCL12 tuvieron una mSLP de 48 días (N = 7). En un momento posterior durante el estudio, la mSLP para aquellos

La FIG. 7 y FIG. 8 muestran resultados de experimentos *in vitro* con líneas celulares de linfoma y leucemia de células T, que demuestran adicionalmente que la expresión de CXCL12 y la variación génica en la UTR 3' de CXCL12 pueden ser útiles como biomarcadores de la actividad de tipifarnib en PTCL. La FIG. 7. muestra que CXCL20 se expresa en ciertas líneas celulares T-LL sensibles a tipifarnib y no es detectable en otras líneas celulares T-LL que son resistentes a tipifarnib. La FIG. 8 muestra que la potencia de tipifarnib es mayor (CI50 es menor) con las células T-LL que muestran una mayor expresión de CXCL12 que con las células T-LL que muestran una menor expresión de CXCL12.

La Tabla 1 también muestra los niveles de expresión de KIR3DL2 para 13 sujetos. Los sujetos con una expresión alta de KIR3DL2 (p. ej., más de 1000) no mostraron RP o EE. Por tanto, parece que tipifarnib no muestra actividad en PTCL que expresa KIR3DL2.

La variante R2729Q del gen CENPF se observó en 7 de 16 sujetos (44%) (Tabla 1). Cinco de seis sujetos con una mejor respuesta de RP/EE y 2 de 10 sujetos con una mejor respuesta de EP (no se obtuvo una muestra calificada en 2 sujetos) portaban R2729Q. La frecuencia general de R2729Q en la población estadounidense es de 59%.

Se observaron SNP ubicados en la secuencia codificante N-terminal de SIK3 (S986Y, P1076R, P1136R (5 sujetos), S1163G) en 8 sujetos (Tabla 1). Un sujeto adicional tenía un tumor con una mutación N559H (50% de variación total). Seis de 6 sujetos con una mejor respuesta de RP/EE y 3 de 11 sujetos con una mejor respuesta de EP portaban SNV de SIK3. La frecuencia general de SNV del gen SIK3 en la población estadounidense es del 19%.

Ejemplo III

Decisiones de tratamiento con FTI individualizado

Se pueden realizar los siguientes procedimientos para determinar si un paciente es adecuado para un tratamiento con FTI, tal como un tratamiento con tipifarnib.

La inmunotinción para CXCL12, CXCR4 y/o KIR3DL2 se puede realizar en cortes de tejido embebidos en parafina y fijados con formalina de pacientes después de la recuperación de antígeno con microondas a una concentración de 1 mmol/L de EDTA, pH 8,0, con un anticuerpo monoclonal contra CXCL12, CXCR4, y/o KIR3DL2 humanos conocido en la técnica, utilizando un método con peroxidasa de rábano picante avidina-biotina indirecto convencional y desarrollo de color de diaminobencidina como es bien conocido en la técnica. La tinción se puede comparar con la del anticuerpo de control de isotipo de IgG de ratón diluido a una concentración de proteína idéntica para todos los casos estudiados, para confirmar la especificidad de la tinción.

También se puede analizar al paciente para detectar CXCL12 circulante, por ejemplo, en una muestra de suero. Las muestras de biopsia también se pueden someter a prueba para detectar biomarcadores de EBV tales como CXCL13 y PD-1.

Las células T se pueden aislar de las Células mononucleares de sangre periférica (PBMC) obtenidas del suero del paciente. El ARN total se puede extraer de muestras de células utilizando el kit Trizol (Qiagen, Santa Clarita, CA). La calidad del ARN se puede determinar evaluando la presencia de bandas ribosómicas en un bioanalizador Agilent (Agilent, Palo Alto, CA). Se pueden utilizar muestras de buena calidad para reacciones de transcripción inversa (RT) utilizando el Kit de Transcripción Inversa de ADNc de Alta Capacidad (Applied Biosystems, Foster City, CA) según las instrucciones del fabricante. Se puede realizar RT-PCR cuantitativa (qRT-PCR) para CXCL12, CXCR4, SIK3 y/o CENPF utilizando el Sistema de Detección de Secuencias ABI Prism 7900HT (Applied Biosystems) con todas las muestras procesadas por triplicado. Se puede ejecutar un control negativo sin molde de ADNc con cada ensayo. El número de copias de la transcripción por individuo se puede calcular mediante la normalización a la expresión de EEF1A1.

Si se determina que el paciente con cáncer, por ejemplo, el paciente con PTCL, tiene una expresión alta de CXCL12, y/o si se determina que el paciente con cáncer, por ejemplo, el paciente con PTCL, tiene niveles altos de CXCL12 y niveles bajos de CXCR4 y si no se impide que el paciente reciba un tratamiento con tipifarnib, se prescribe un tratamiento con tipifarnib. Por otro lado, si se determina que el paciente con cáncer, por ejemplo, el paciente con PTCL, no tiene una expresión alta de CXCL12, o si se determina que el paciente con cáncer, por ejemplo, el paciente con PTCL, tiene niveles bajos de CXCL12 o altos niveles de CXCR4, no se recomienda un tratamiento con tipifarnib.

Si se determina que el paciente con cáncer, por ejemplo, el paciente con PTCL, tiene una expresión de la variante del gen SIK3 o una expresión de la variante de R2729Q en CENPF y si no se impide que el paciente reciba un tratamiento con tipifarnib, se prescribe un tratamiento con tipifarnib.

Si se determina que el paciente con cáncer, por ejemplo, el paciente con PTCL, tiene expresión de KIR3DL2, no se

recomienda el tratamiento con tipifarnib.

Si se determina que el paciente con cáncer, por ejemplo, el paciente con PTCL, tiene una variante de un solo nucleótido de CXCL12 en la UTR 3', no se recomienda un tratamiento con tipifarnib. El ADN para la determinación de una variante de CXCL12 en la UTR 3' se puede obtener a partir de biopsias de tumores, biopsias de ganglios linfáticos, aspirados de médula ósea, muestras de sangre, PBMC obtenidas de muestras de sangre o hisopos bucales.

Si se prescribe un tratamiento con tipifarnib al paciente con cáncer, por ejemplo, el paciente con PTCL, el paciente con cáncer, por ejemplo, el paciente con PTCL, puede recibir simultáneamente otro tratamiento, tal como radiación ionizante, o un segundo agente activo o una terapia asistencial de apoyo, según lo considere adecuado el oncólogo. El segundo agente activo puede ser un agente hipometilante del ADN, tal como azacitidina o decitabina.

Ejemplo IV

Evidencia de actividad en el estudio clínico de tipifarnib en pacientes con AML

Se realizaron estudios clínicos previos con tipifarnib en AML recién diagnosticada en pacientes de edad avanzada con AML de bajo riesgo (CTEP-20, Fase 2) o AML en recaída y refractaria (INT-17, Fase 2). En estos estudios, la selección de pacientes no se basó en marcadores genéticos. Se informó de evidencia anecdótica de la actividad de tipifarnib como agente único. Sin embargo, la actividad clínica general en la población de pacientes no apoyó el registro de tipifarnib.

El análisis de los datos de perfiles de expresión de ARNm de pacientes en las pruebas CTEP-20 e INT-17 mostró que la eficacia de tipifarnib fue mayor en pacientes con razones de expresión de CXCL12/CXCR4 relativamente elevadas. La FIG. 9 muestra que los pacientes de AML debilitados de edad avanzada no sometidos a tratamiento previo en el tercil de expresión más alto de CXCL12 (nivel más alto de expresión de CXCL12) experimentaron 431 días de mediana de supervivencia libre de progresión (mSLP), los pacientes en el segundo tercil experimentan 89 de mSLP, y los pacientes en el tercer tercil (nivel más bajo de expresión de CXCL12) experimentaron 33 días de mSLP bajo el mismo régimen de tratamiento con tipifarnib. La FIG. 10 muestra que los pacientes con AML en recaída o refractaria en el quintil más alto de expresión de CXCR4 experimentaron 182 días de mediana de supervivencia, que es aproximadamente el doble de la mediana de supervivencia de los pacientes en el quintil de expresión de CXCR4 más bajo.

Estos resultados demuestran que los pacientes de AML que se benefician de tipifarnib se pueden identificar y seleccionar para el tratamiento con tipifarnib en función de los niveles de expresión de CXCL12 y CXCR4 de los pacientes.

Ejemplo V

Evidencia de actividad en el estudio clínico de tipifarnib en pacientes de PTCL

Este ejemplo describe un estudio de fase 2 (ClinicalTrials.gov Identificador: NCT02464228) diseñado para investigar la actividad antitumoral de tipifarnib en 18 pacientes con PTCL en recaída o refractario, y ciertos resultados del estudio.

Medidas de resultado primarias: Tasa de Respuesta Objetiva (TRO) según los Criterios del Taller Internacional (IWC) y/o enfermedad cutánea medible según la Herramienta de Evaluación Ponderada de Gravedad modificada (mSWAT). Las medidas de resultado secundarias incluyen el efecto de tipifarnib sobre la tasa de supervivencia libre de progresión (SLP) en 1 año, duración de la respuesta (DDR); y seguridad y tolerabilidad de tipifarnib.

Diseño del estudio: 300 mg de tipifarnib oral dos veces al día (bid) los días 1 a 21 de los ciclos de tratamiento de 28 días. Un diseño de dos etapas de Simon para TRO.

Cohorte de expansión de AITL: según la actividad antitumoral observada en las fases 1 y 2, se está inscribiendo una cohorte de expansión de AITL (N = 12). Recaída o refractaria a al menos 1 terapia citotóxica sistémica previa.

Disposición del paciente:

Tratados totales	N (%)	19 (100)
AITL	n (%)	3 (16)
ALCL, ALK negativo	n (%)	1 (5)
PTCL, NOS	n (%)	15 (79)
Líneas previas de Terapia	Mediana (Intervalo)	4 (1 – 7)
Interrupciones Totales	n (%)	17 (89)
Razones para la Interrupción:		
Enfermedad Progresiva	n (%)	16 (94)
Retirada del Consentimiento	n (%)	1 (6)

Seguridad y tolerabilidad: Las toxicidades coincidieron con el perfil de seguridad conocido de tipifarnib. Los EAET de grado ≥ 3 relacionados con el fármaco que se produjeron en $\geq 10\%$ de los pacientes estaban relacionados con la hematología: neutropenia (74%), trombocitopenia (58%), leucopenia (47%), anemia y neutropenia febril (32% cada una) y linfopenia (16%). La mielosupresión fue manejable con interrupción del tratamiento, reducciones de dosis y/o apoyo transfusional. El régimen de dosis se modificó a 300 mg dos veces al día los días 1-21 de los ciclos de tratamiento de 28 días debido al perfil de tolerabilidad observado del régimen de semanas alternas probado en las etapas 1 y 2 del estudio.

Ocho sujetos estudiados portaban la SNV rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12; un sujeto presentó una nueva variante en la UTR 3' de CXCL12, y 8 sujetos portaban secuencias de referencia en la UTR 3' de CXCL12.

Últimas terapias previas a las que se sometieron los sujetos estudiados: quimioterapia (7 sujetos), brentixumab (4 sujetos), HDACi (2 sujetos), lenalidomida (2 sujetos), ruxolitinib (1 sujeto).

La mediana de SLP general para tipifarnib (5ª línea) en sujetos con datos NGS fue de 53 días (la SLP general es para todos los sujetos con datos de NGS, incluidos aquellos con la UTR 3' de CXCL12 de referencia y la UTR 3' de CXCL12 variante). La mediana de la SLP general de estos sujetos en su última terapia previa fue de 82 días.

Se observó una expresión baja de CXCL12 en muestras de tumores que portaban la variante rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12.

Las FIG. 11, 12A y 12B muestran que el beneficio clínico de tipifarnib está asociado con el genotipo CXCL12.

La FIG. 11 muestra el porcentaje de reducción de SPD durante los ciclos de tratamiento con tipifarnib para sujetos con la UTR 3' de referencia de CXCL12 ("Referencia") frente a sujetos con la UTR 3' variante de CXCL12 (SNV rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12 o una nueva variante en la UTR 3' de CXCL12). SPD es la Suma de los Productos de los Diámetros, que es una medida del tamaño del tumor. La Fig. 11 muestra que tipifarnib reduce el tamaño del tumor en sujetos que portan la UTR 3' de referencia de CXCL12 (es decir, sin las SNV en la UTR 3' del gen CXCL12), como se muestra por el % de reducción negativa en SPD en sujetos con la UTR 3' de referencia.

La FIG. 12A muestra la supervivencia libre de progresión en sujetos portadores de la UTR 3' de referencia de CXCL12 tratados con tipifarnib y en sujetos portadores de la UTR 3' de CXCL12 de referencia tratados con la última terapia previa. Los sujetos tratados con tipifarnib tuvieron una mSLP de 133 días, mientras que los sujetos tratados con la última terapia previa tuvieron una mSLP de 85 días. $p = 0,09$.

La FIG. 12B muestra la supervivencia libre de progresión en sujetos portadores de la UTR 3' variante de CXCL12 tratados con tipifarnib y en sujetos portadores de la UTR 3' variante de CXCL12 tratados con la última terapia previa. Los sujetos tratados con tipifarnib tuvieron una mSLP de 34 días, mientras que los sujetos tratados con la última terapia previa tuvieron una mSLP de 43 días. No se observaron diferencias significativas entre los grupos.

Se midió la expresión de CXCL12 y CXCR4, así como la razón de la expresión de CXCL12 con respecto a CXCR4 en 15 sujetos. Los sujetos que portaban la UTR 3' de referencia de CXCL12 mostraron una razón más alta de CXCL12 con respecto a CXCR4 con relación a los sujetos que portaban la SNV rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12, como se muestra en la FIG. 12C.

La FIG. 13A y 13B muestran que el beneficio clínico de tipifarnib está asociado con la expresión de CXCL12.

Se observó una expresión baja de CXCL12 en muestras de tumores que portaban la variante rs2839695 en la UTR 3' de CXCL12. La mediana de SLP general para tipifarnib (5ª línea) en sujetos con datos de NGS fue de 53 días (la SLP general es para todos los sujetos con datos de NGS, incluidos aquellos con UTR 3' de CXCL12 de referencia y la UTR 3' de CXCL12 variante). La mediana de SLP para los mismos sujetos en su último tratamiento previo fue de 84 días.

La FIG. 13A muestra una supervivencia libre de progresión en sujetos con baja expresión de CXCL12 tratados con tipifarnib y en sujetos con alta expresión de CXCL12 tratados con tipifarnib. Los sujetos con baja expresión de CXCL12 tuvieron una mSLP de 49 días, mientras que los sujetos con alta expresión de CXCL12 tuvieron una mSLP de 190 días. $p = 0,0015$.

La FIG. 13B muestra la supervivencia libre de progresión en sujetos con baja expresión de CXCL12 tratados con la última terapia previa y en sujetos con alta expresión de CXCL12 tratados con la última terapia previa. No se observaron diferencias significativas entre los sujetos con baja expresión de CXCL12 y los sujetos con alta expresión de CXCL12.

La FIG. 13A y 13B muestran que tipifarnib, pero no la terapia convencional de atención, duplicó la SLP de la última terapia previa en sujetos con la UTR 3' de CXCL12 de referencia.

Los datos de expresión génica tumoral estuvieron disponibles para 12 pacientes. Cinco de esos pacientes experimentaron reducciones en el tamaño del tumor y una mediana de tiempo prolongada (> 6 meses) hasta la progresión que se asoció con una expresión elevada de CXCL12 ($p < 0,001$). Dos pacientes con histología de AITL

expresaron altos niveles de CXCL12 y experimentaron RP. Uno de los pacientes de AITL expresó de manera anormalmente alta CXCL13 y VCAM1 moderado, mientras que el otro expresó de manera anormalmente alta VCAM1 y otros marcadores vasculares (PDGFRA, ANGPT1, TEK), apuntando hacia dos mecanismos conocidos de regulación por incremento de CXCL12 (regulación por disminución de Mir23A por CXCL13 en células del estroma y producción por células endoteliales vasculares de CXCL12). Los resultados de los sujetos y las características de expresión para el estudio clínico de tipifarnib en pacientes de PTCL se muestran en las Tablas 2 y 3 a continuación:

Tabla 2:

Experimento RNA Seq Núm. 1

Paciente	2002	2004	3002	4001	2001	4004
Histología tumoral	NOS	NOS	NOS	NOS	NOS	AITL
Respuesta	EP	EP	EP	EE	EE	RP
Expresión de CXCL12	469	759	613	2659	1160	3265
Expresión de CXCL13	4602	303	351	1729	1039	25355
Expresión de VCAM1	3643	2328	1776	4111	1118	7359
Expresión de PDGFRA	898	1538	1453	1038	440	1080
Expresión de ANGPT1	0	21	188	84	0	28
Expresión de TEK	495	634	791	734	138	691
Expresión de GAPDH	17369	10574	9485	12101	6328	16189

Tabla 3:

Experimento RNA Seq Núm. 2

Paciente	2005	2006	4005	4006	4007	6003	2007
Histología tumoral	NOS	NOS	NOS	NOS	NOS	NOS	AITL
Respuesta	EP	EP	EP	EP	EP	EE	PR
Expresión de CXCL12	1570	325	834	1211	1081	3728	14076
Expresión de CXCL13	16876	47	715	10	2088	424	1176
Expresión de VCAM1	2874	1255	5746	546	5344	4785	29134
Expresión de PDGFRA	1415	74	2037	2872	684	856	6227
Expresión de ANGPT1	34	43	24	63	22	93	769
Expresión de TEK	560	192	207	990	436	389	4542
Expresión de GAPDH	45614	22595	15801	112381	17003	27244	10403

Los resultados del estudio muestran una actividad alentadora de tipifarnib en pacientes de PTCL, particularmente en aquellos pacientes con tumores de histología AITL y alta expresión de CXCL12. El tipifarnib también fue generalmente bien tolerado. Los EA relacionados con el tratamiento más frecuentes (grado ≥ 3) estuvieron relacionados con la hematología, incluyendo neutropenia, trombocitopenia, leucopenia, anemia y neutropenia febril.

REIVINDICACIONES

1. Tipifarnib para su uso en un método de tratamiento de un linfoma angioinmunoblástico de células T (AITL) en un sujeto.
2. El tipifarnib para el uso de la reivindicación 1, en el que el AITL es un AITL en recaída o refractario.
3. El tipifarnib para el uso de la reivindicación 1 o 2, en el que el método comprende administrar selectivamente dicho tipifarnib al sujeto sobre la base de que el sujeto tiene un tumor de histología AITL.
4. El tipifarnib para el uso de la reivindicación 3, en el que la histología AITL se caracteriza por un componente de células tumorales;
en el que opcionalmente el componente de células tumorales comprende células neoplásicas polimorfas de tamaño medio derivadas de células T auxiliares foliculares.
5. El tipifarnib para el uso de la reivindicación 3, en el que la histología AITL se caracteriza por un componente de células no tumorales;
opcionalmente en el que el componente de células no tumorales comprende vasos sanguíneos prominentes en forma de árbol; y/o
opcionalmente en el que el componente de células no tumorales comprende proliferación de células dendríticas foliculares; y/o
opcionalmente donde el componente de células no tumorales comprende blastos de células B positivos para EBV dispersos.
6. El tipifarnib para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el sujeto que tiene AITL ha sido diagnosticado con AITL.
7. El tipifarnib para el uso de la reivindicación 6, en el que el diagnóstico con AITL comprende la visualización de un componente no tumoral; o
en el que el diagnóstico con AITL comprende la visualización de proliferación de vénulas endoteliales; o
en el que el diagnóstico con AITL comprende detectar la presencia de uno o más de los siguientes marcadores tumorales: CXCL13, CD10, PD1 y BCL6.
8. El tipifarnib para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el método comprende administrar dicho tipifarnib oralmente, parenteralmente, rectalmente o tópicamente.
9. El tipifarnib para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el método comprende administrar una forma de dosificación farmacéutica unitaria que proporciona de 1 mg a 1000 mg o de 10 mg a 500 mg de dicho tipifarnib por forma de dosificación unitaria.
10. El tipifarnib para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el método comprende administrar dicho tipifarnib a una dosis de 200 mg, 300 mg, 400 mg, 600 mg, 900 mg o 1200 mg dos veces al día.
11. El tipifarnib para el uso de la reivindicación 10, en el que el método comprende administrar dicho tipifarnib a una dosis de 200 mg, 300 mg, 400 mg, 600 mg o 900 mg dos veces al día.
12. El tipifarnib para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el método comprende administrar dicho tipifarnib los días 1 a 7 y 15 a 21 de un ciclo de tratamiento de 28 días.
13. El tipifarnib para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el método comprende administrar tipifarnib por vía oral a una dosis de 300 mg dos veces al día los días 1 a 21 de un ciclo de tratamiento de 28 días.
14. El tipifarnib para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el método comprende administrar tipifarnib antes, durante o después de la radiación.
15. El tipifarnib para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde el método comprende adicionalmente administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un segundo agente activo o una terapia asistencial de apoyo.

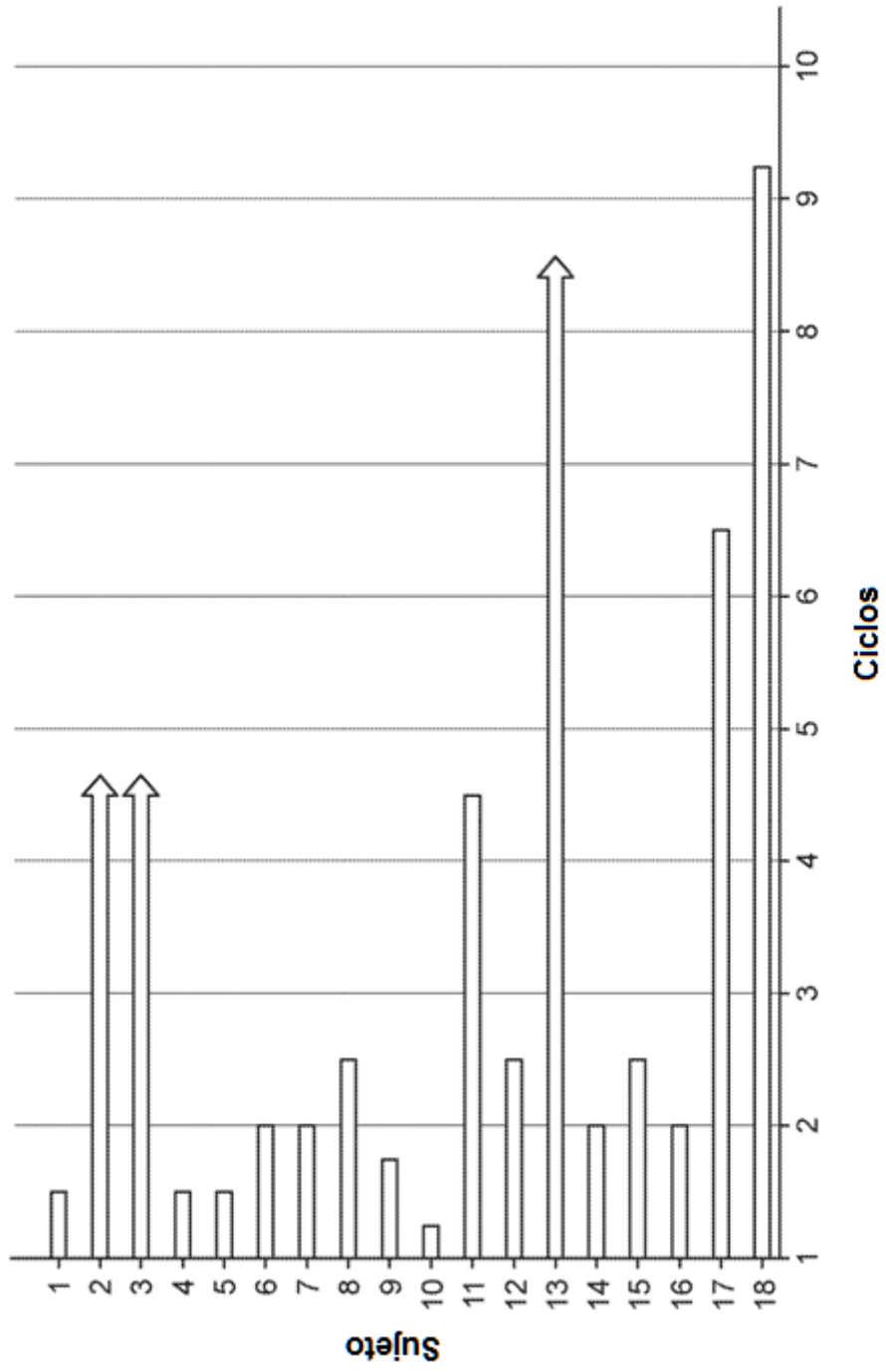


FIG. 1

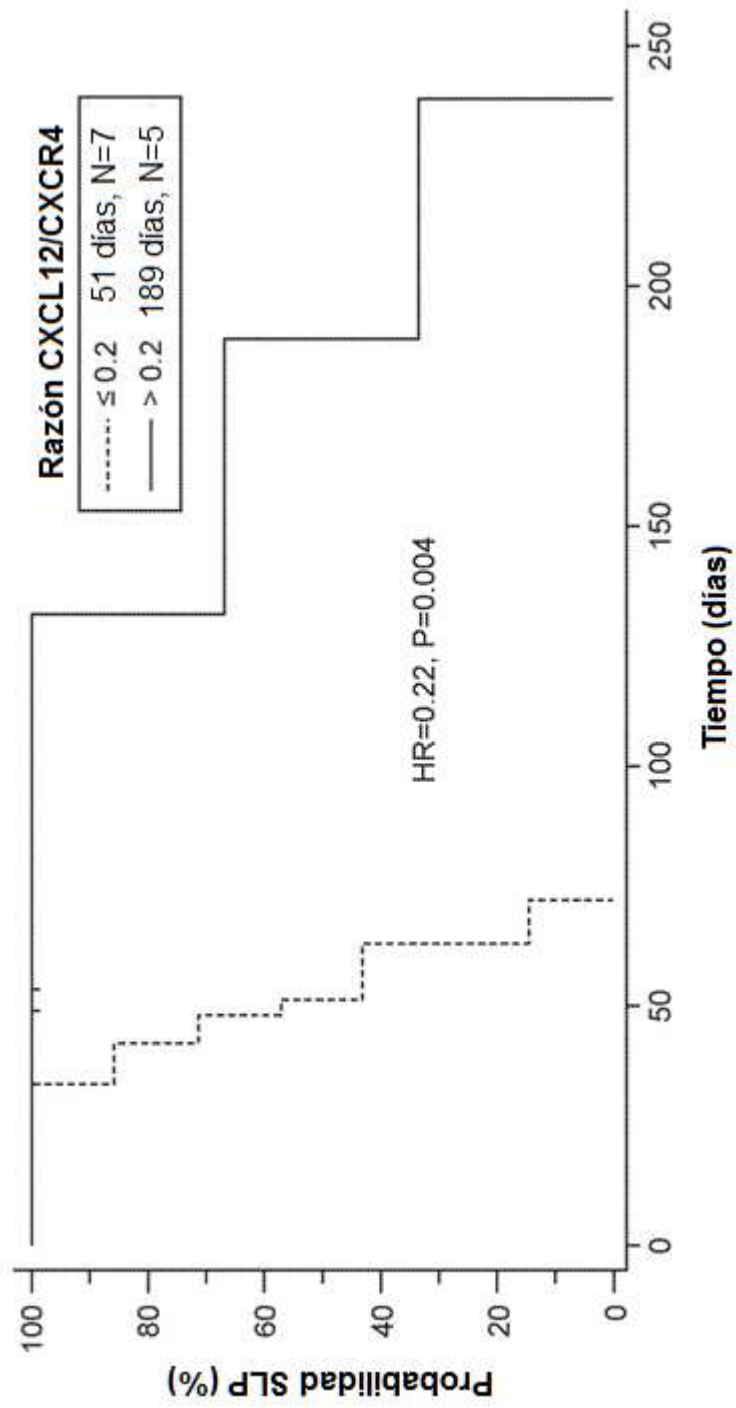


FIG. 2

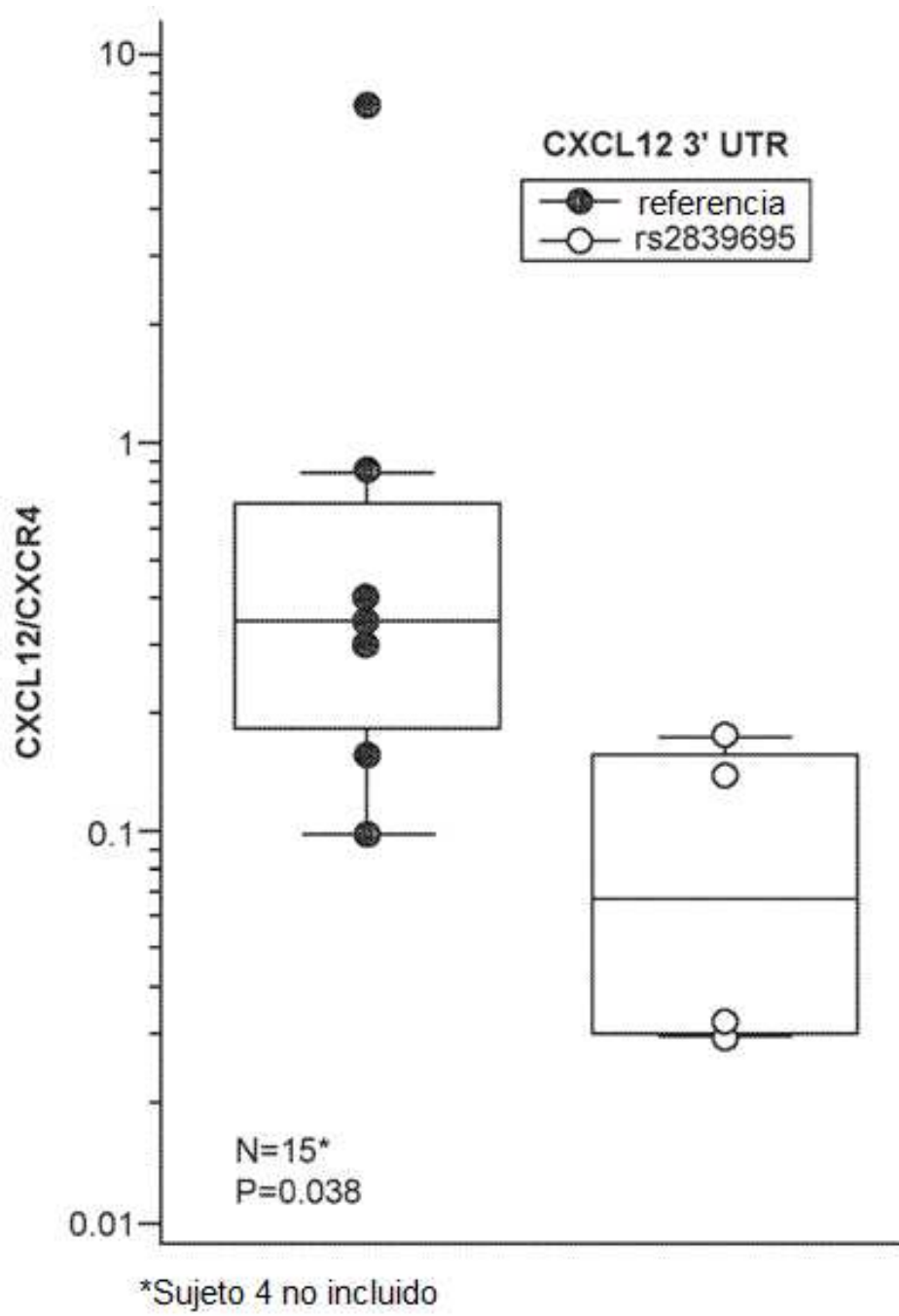


FIG. 3

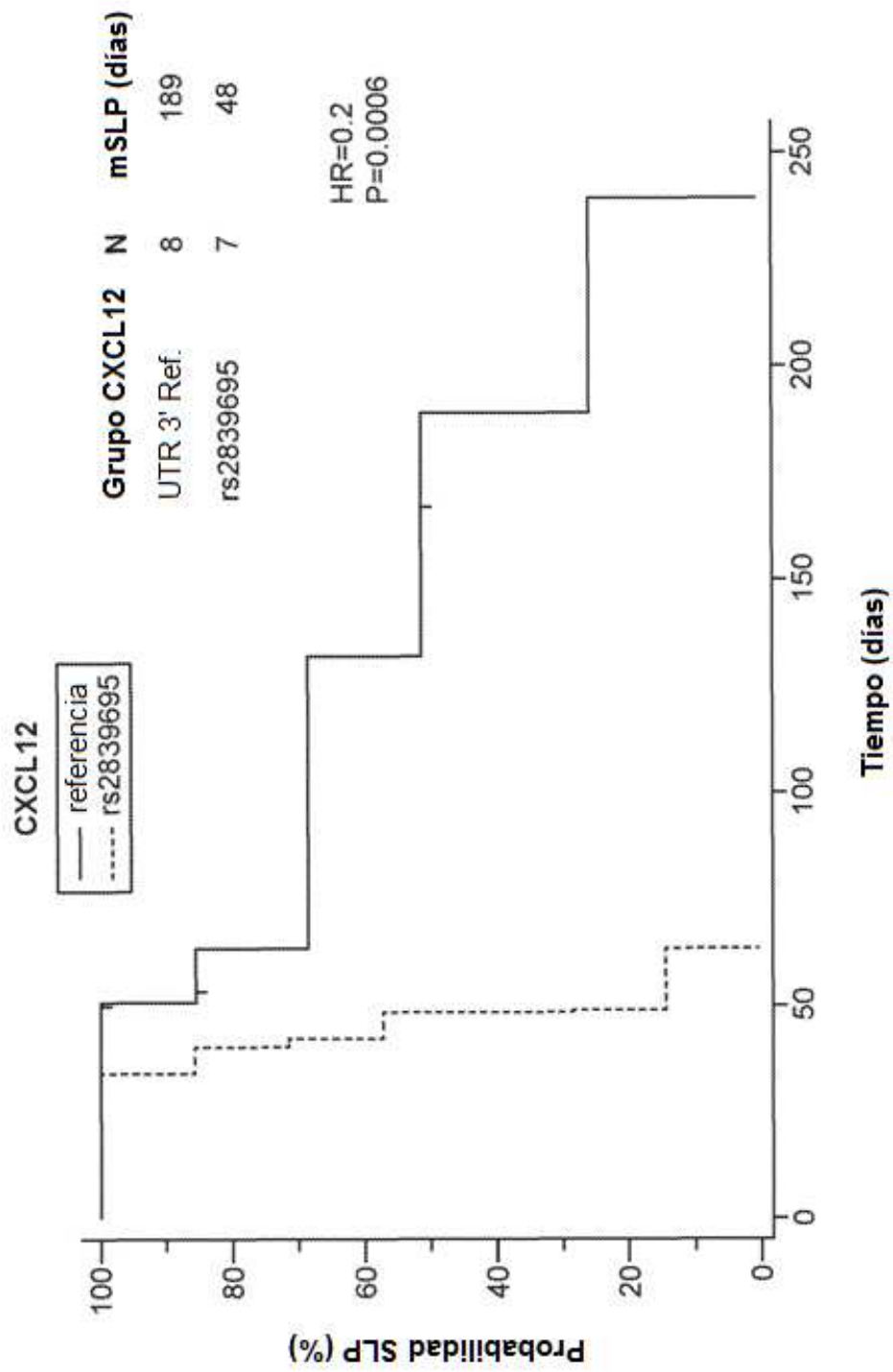


FIG. 4

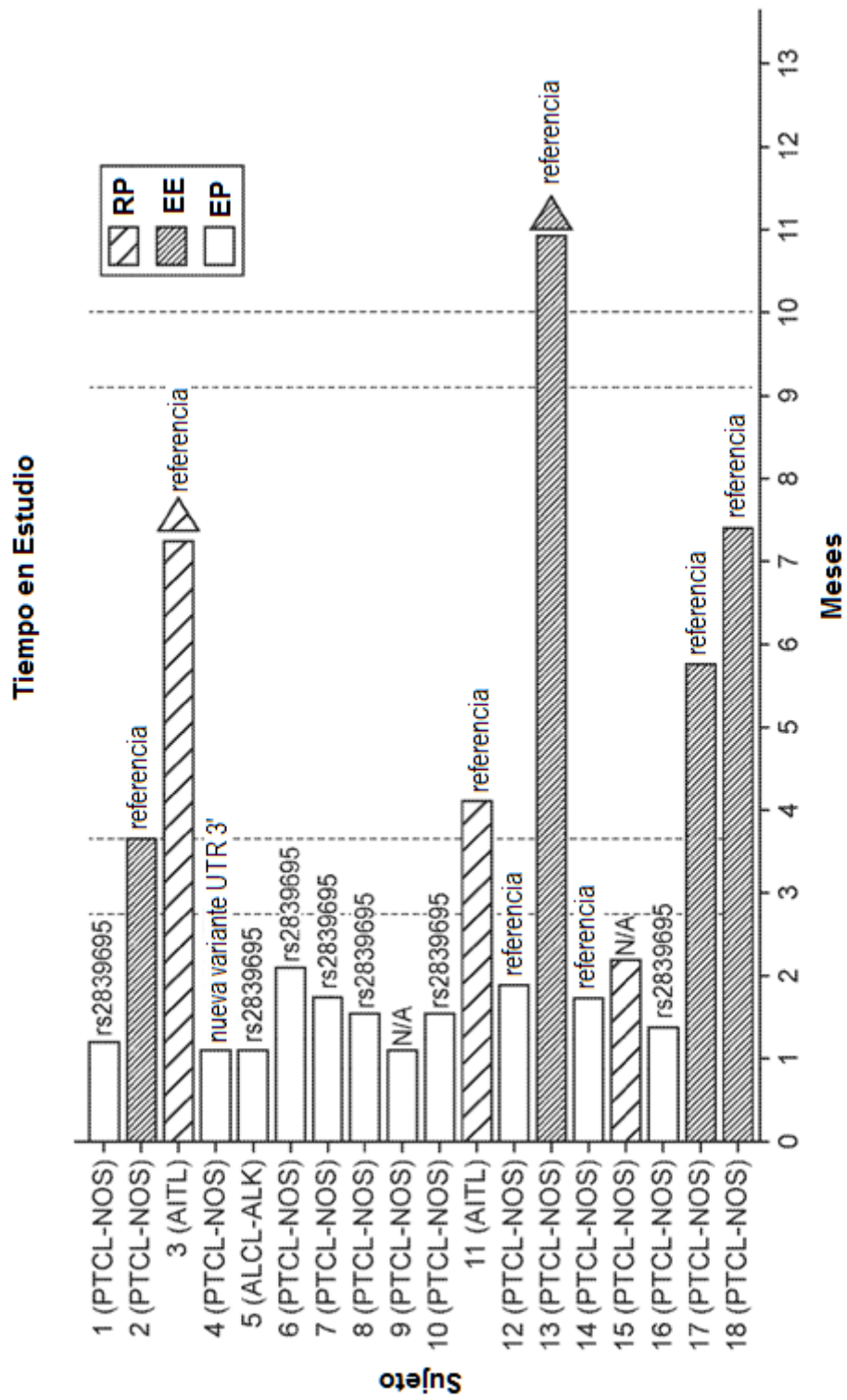


FIG. 5

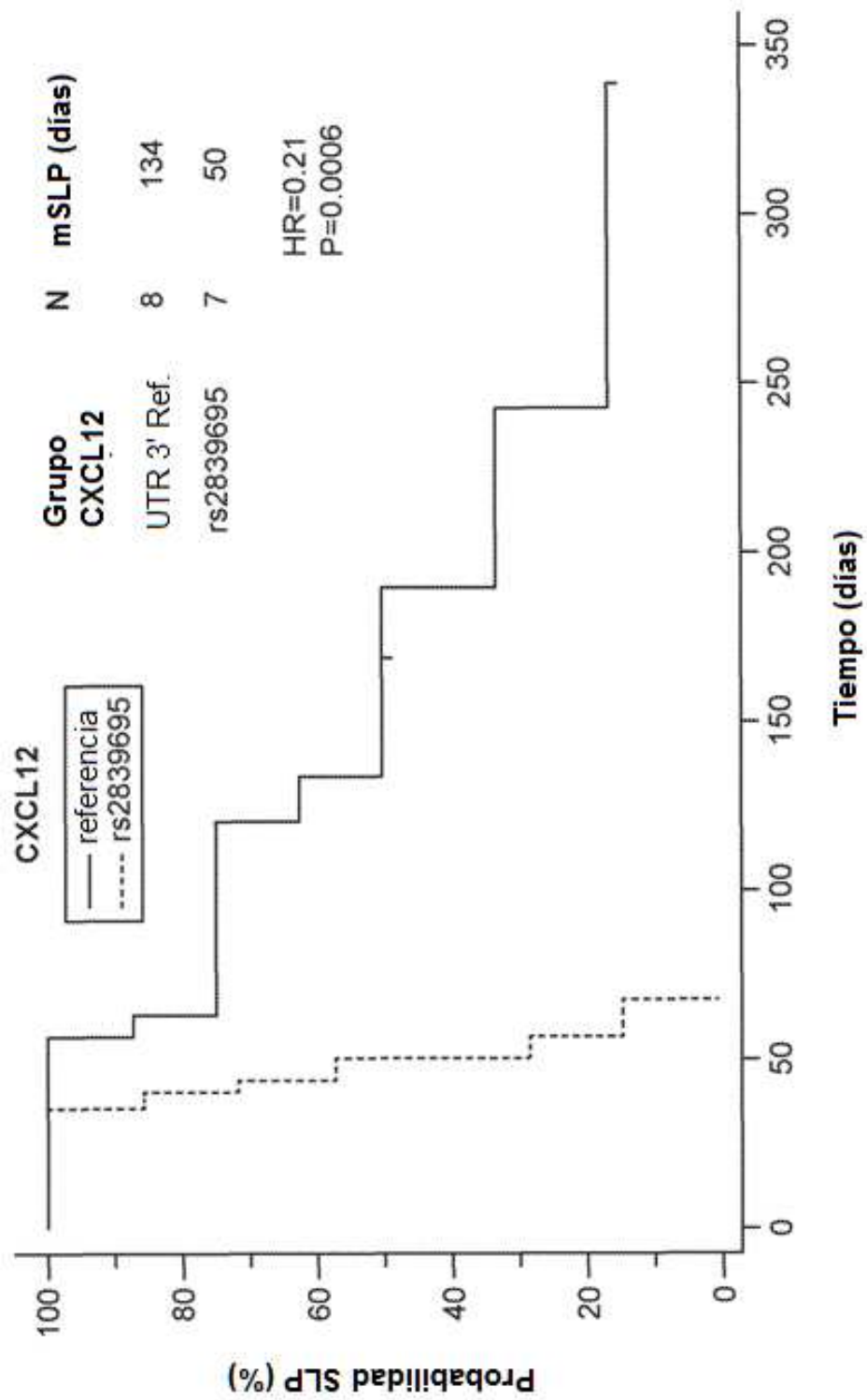


FIG. 6

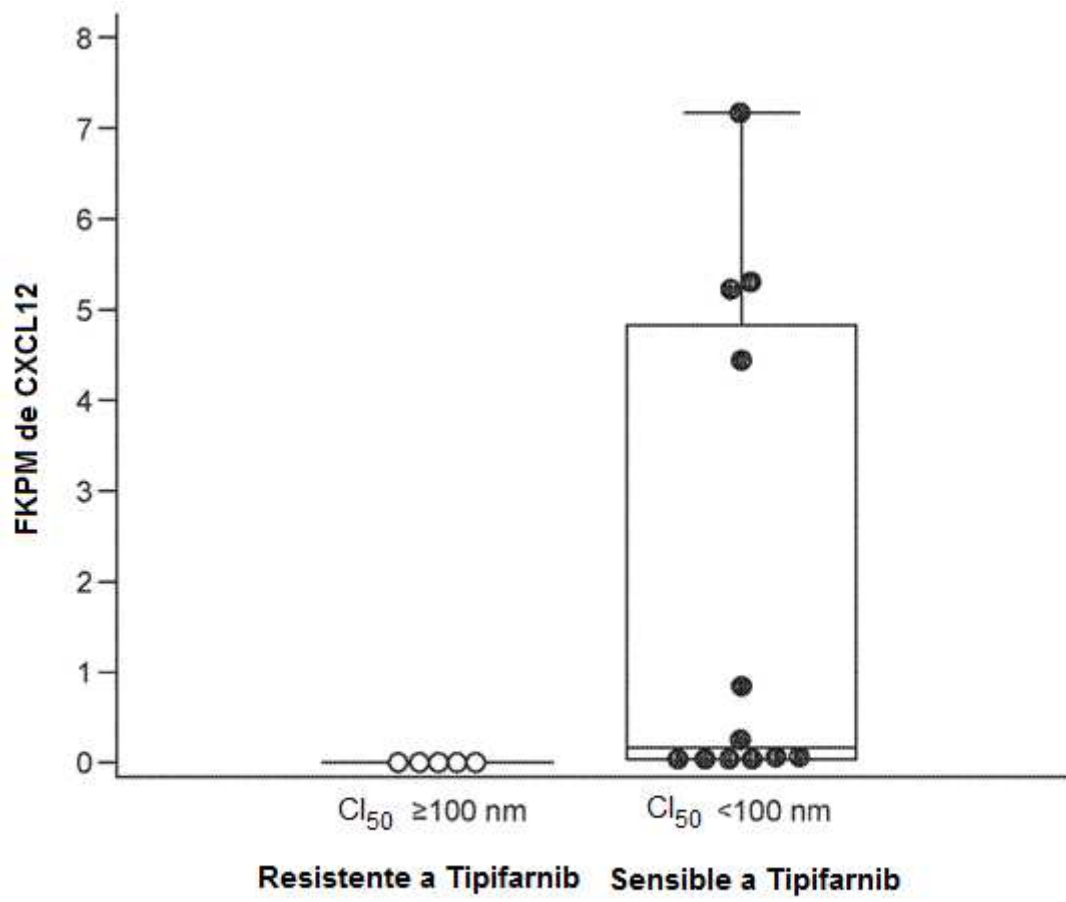


FIG. 7

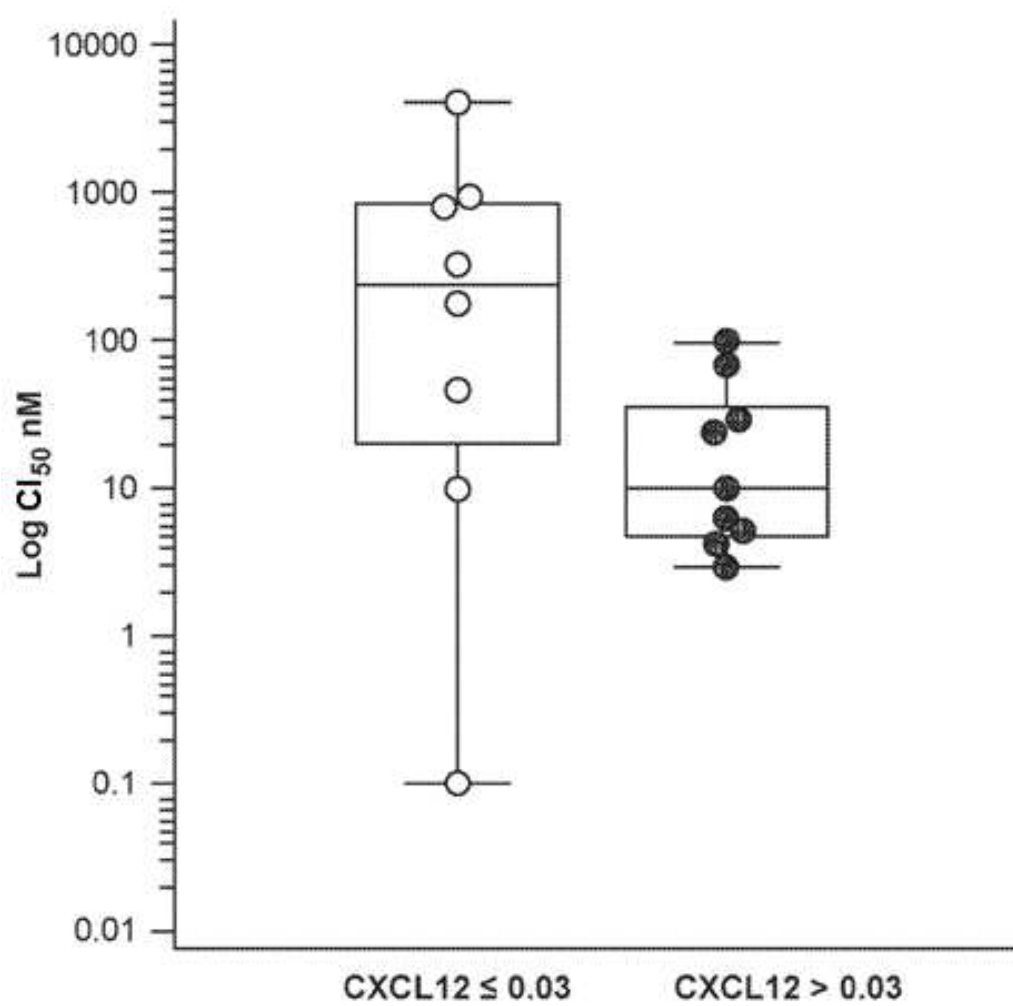


FIG. 8

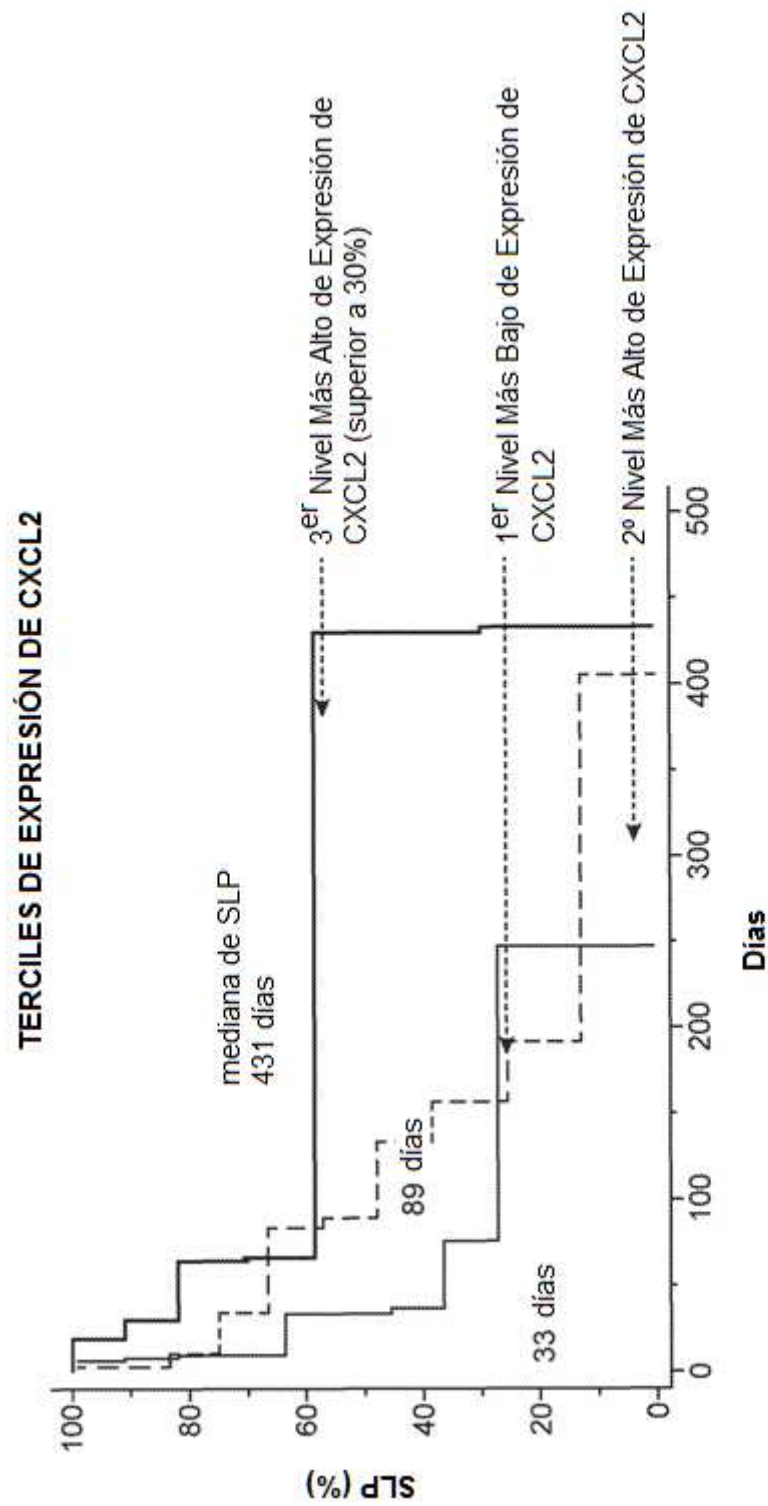


FIG. 9

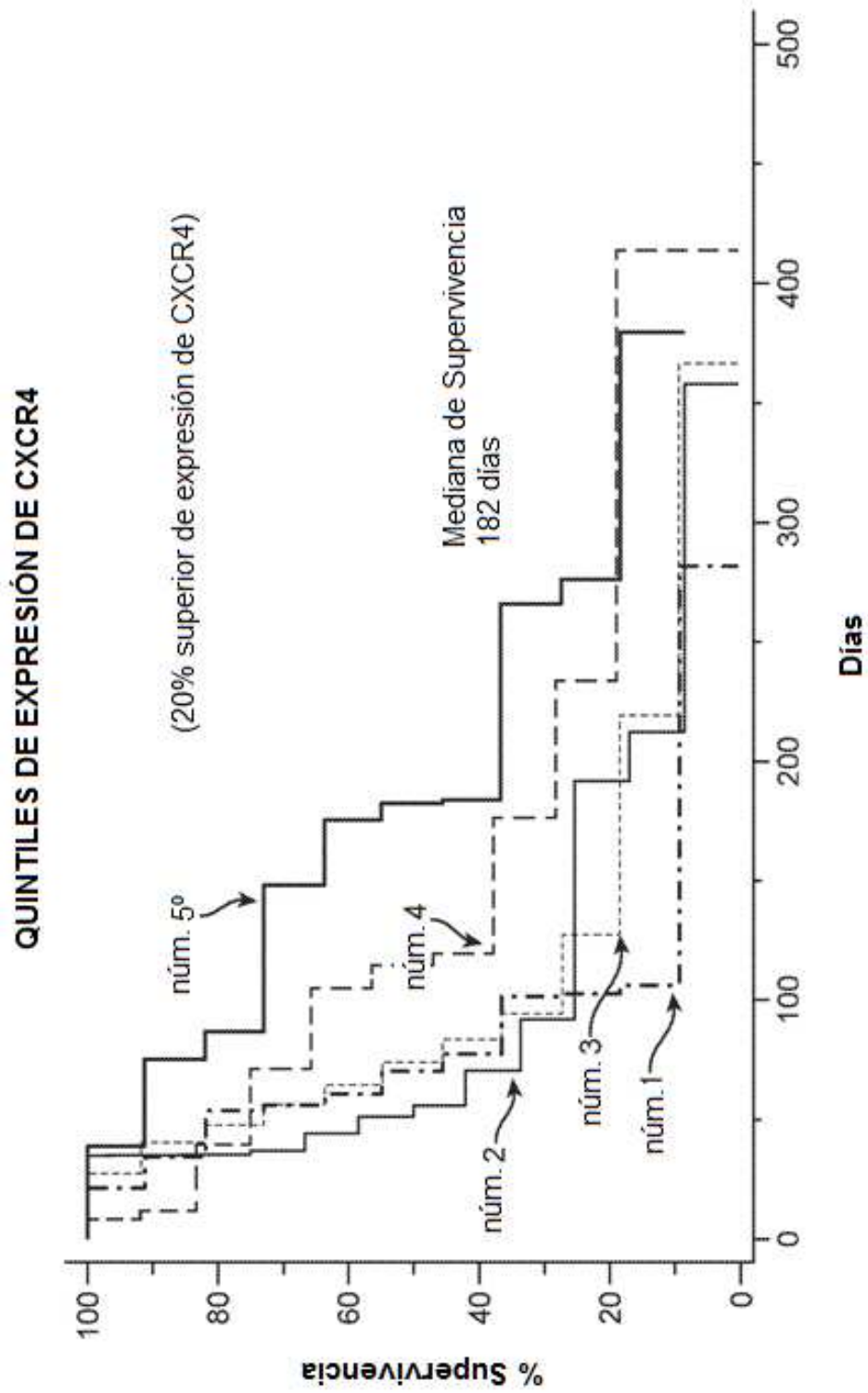


FIG. 10

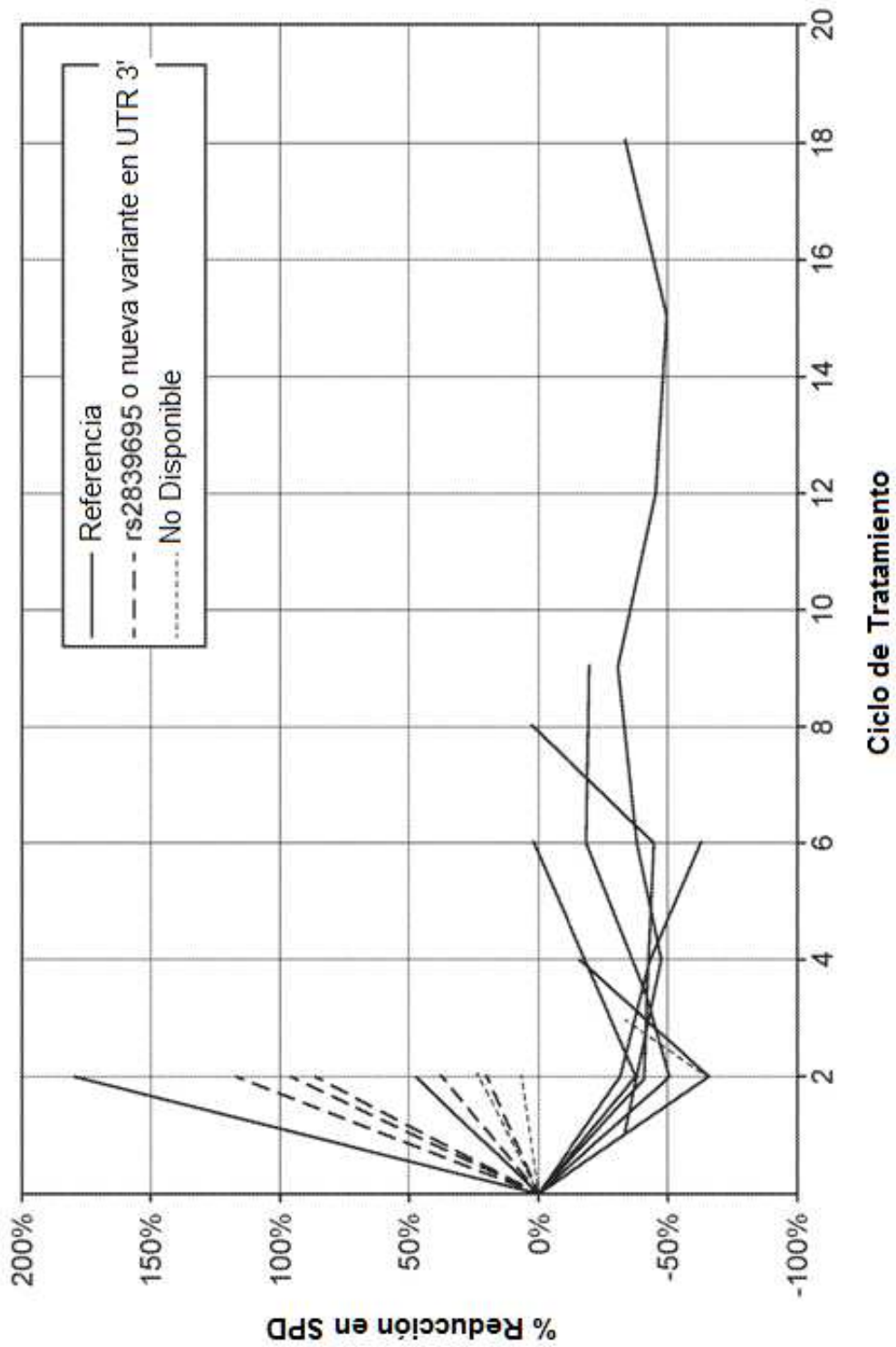


FIG. 11

UTR 3 de Referencia de CXCL2

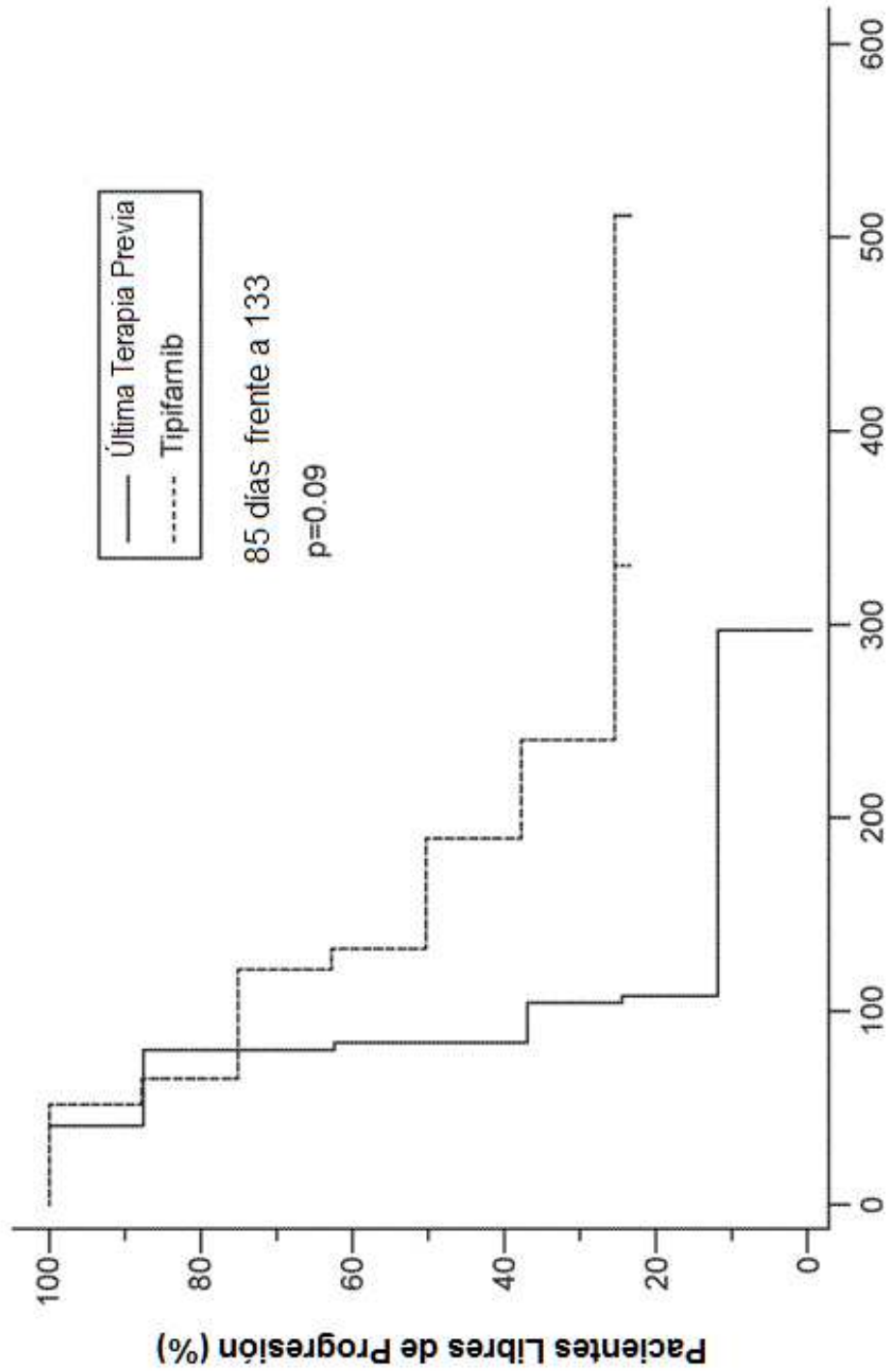


FIG. 12A

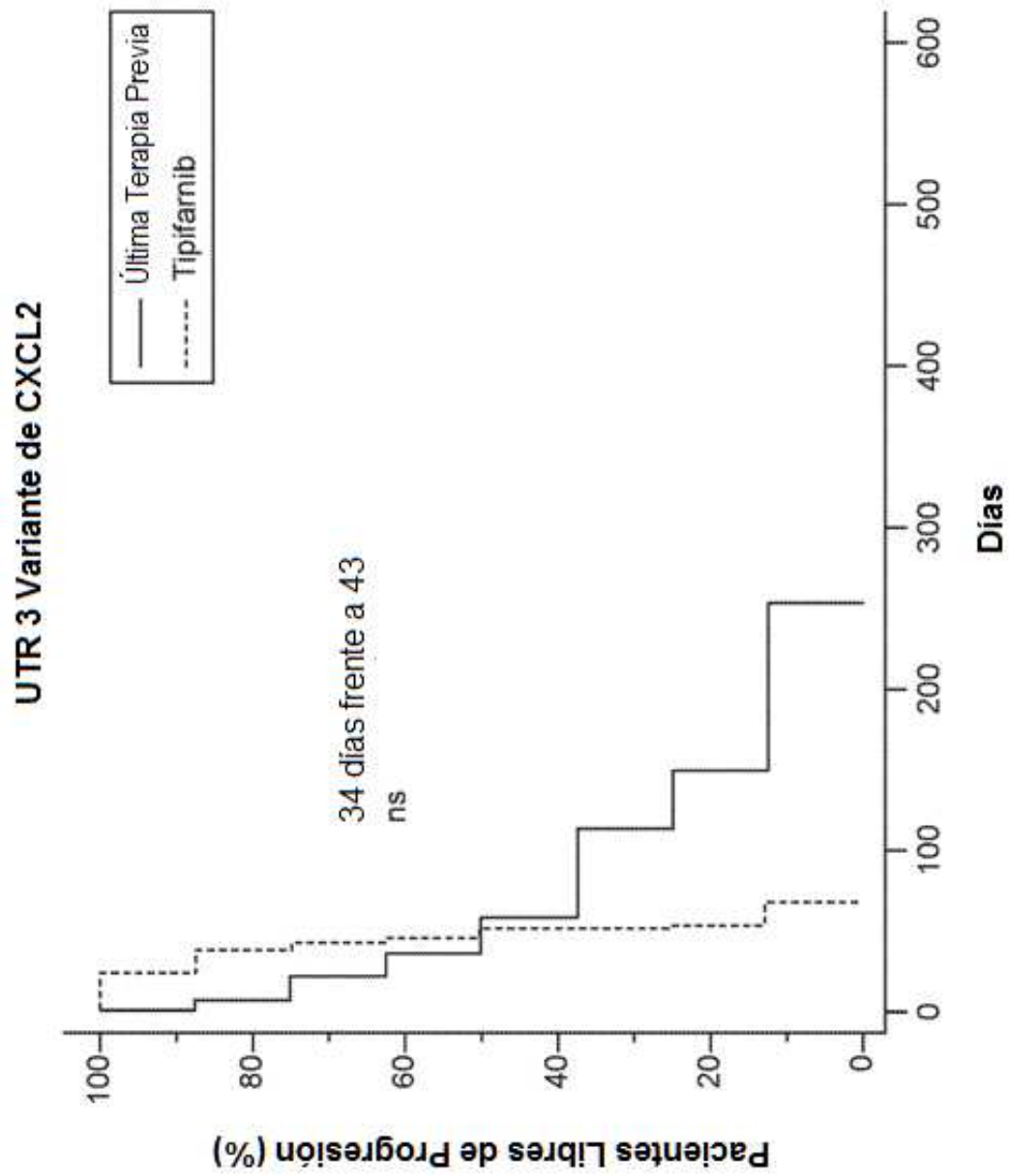


FIG. 12B

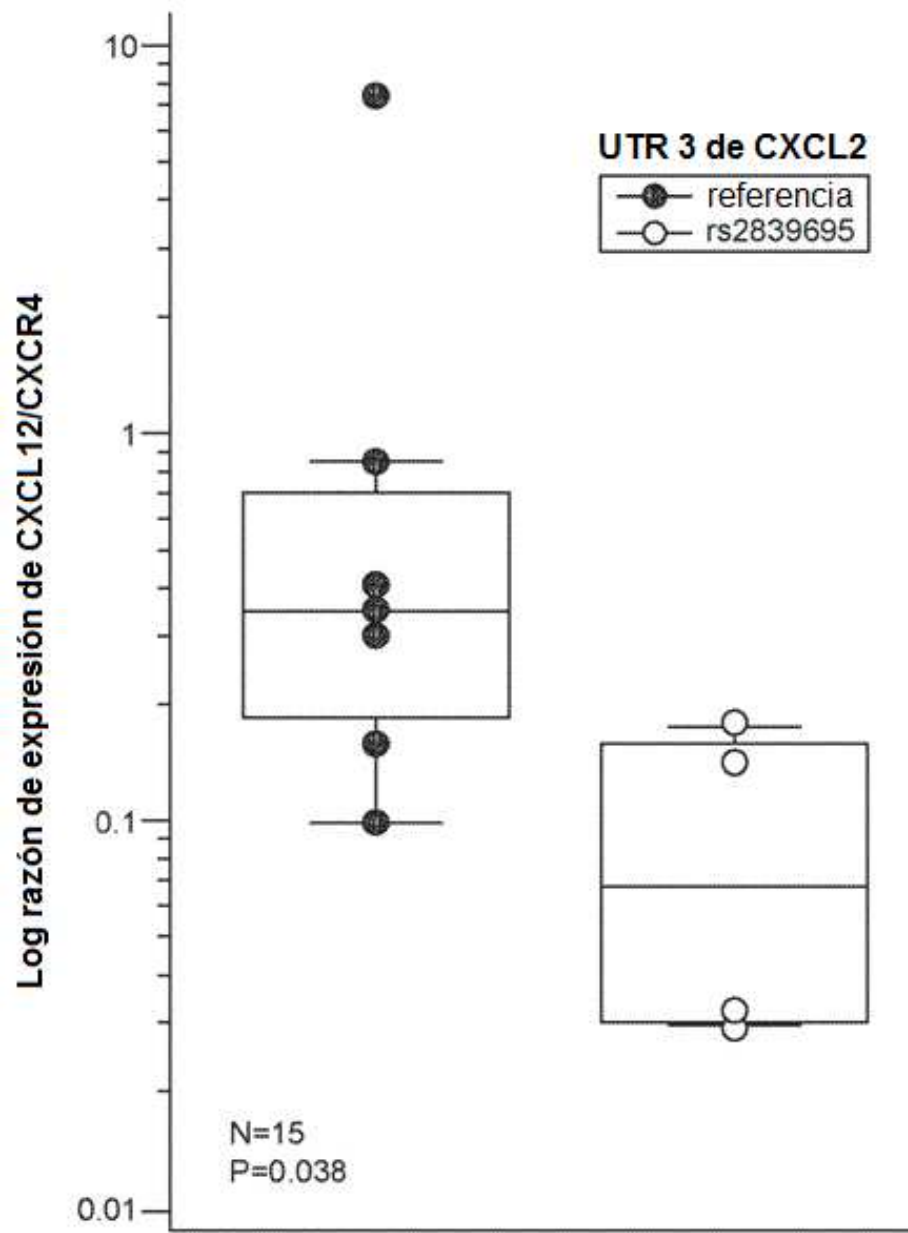


FIG. 12C

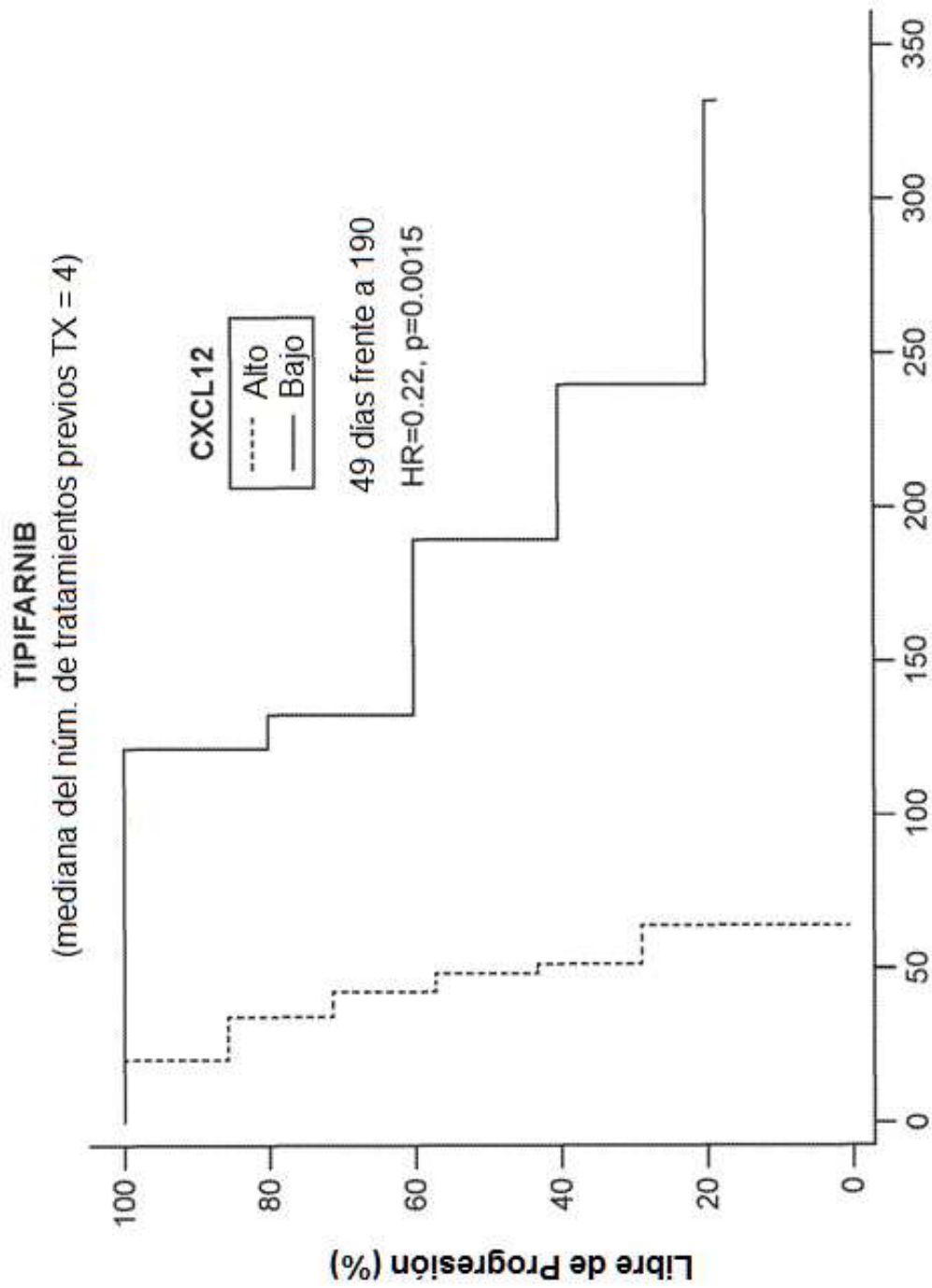


FIG. 13A

