



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **3 012 841**

⑮ Int. Cl.:

**A61K 31/353** (2006.01)  
**A61K 36/82** (2006.01)  
**A61P 35/04** (2006.01)  
**A61K 9/51** (2006.01)  
**A61K 31/495** (2006.01)  
**A61K 31/352** (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- ⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.10.2018 PCT/US2018/054753**  
⑦ Fecha y número de publicación internacional: **11.04.2019 WO19071229**  
⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.10.2018 E 18863859 (7)**  
⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2025 EP 3691632**

⑮ Título: **Composiciones, métodos, sistemas y/o kits para prevenir y/o tratar neoplasias**

⑩ Prioridad:

**06.10.2017 US 201762569413 P**

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**10.04.2025**

⑯ Titular/es:

**RESEARCH CANCER INSTITUTE OF AMERICA (100.00%)  
496 Old Newport Blvd., Ste. 7  
Newport Beach, CA 92663, US**

⑯ Inventor/es:

**NEZAMI, MOHAMMED, AMIN**

⑯ Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 3 012 841 T3**

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

**DESCRIPCIÓN**

Composiciones, métodos, sistemas y/o kits para prevenir y/o tratar neoplasias

**5 Antecedentes**

**Campo**

10 La presente divulgación se refiere a composiciones y/o kits que comprenden, que consisten en, o que consisten esencialmente en, uno o más moduladores de la respuesta antineoplásica junto con uno o más agentes antineoplásicos para prevenir y/o tratar neoplasias.

15 Determinadas realizaciones de la presente divulgación se refieren a composiciones y/o kits que comprenden, que consisten en, o que consisten esencialmente en, uno o más moduladores de la respuesta antineoplásica junto con uno o más agentes antineoplásicos para prevenir y/o tratar neoplasias que son resistentes al uno o más agentes antineoplásicos.

**Descripción de la técnica relacionada**

20 Aunque Temodar ha estado disponible desde finales de los años 1990 y principios de los años 2000, ha habido un aumento reciente en el interés por expandir su uso debido a su capacidad superior para penetrar la barrera hematoencefálica. Sin embargo, los beneficios clínicos de Temodar han sido limitados cuando se administra junto con otros fármacos.

25 El documento WO 2014/091078 se refiere a la farmacología y la medicina, y más específicamente a una composición farmacológica antitumoral de liberación lenta basada en polí(ácido láctico-co-glicólico) biodegradable (PLGA). La composición de acuerdo con el documento comprende temozolomida (TMZ) como principio activo y comprende, además, material tensioactivo y un crioprotector como partes de nanopartículas.

**30 Sumario**

35 En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica para su uso en la profilaxis, el tratamiento o ambos de una neoplasia que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, al menos un agente antineoplásico y un primer modulador de la respuesta antineoplásica, en donde el primer modulador de la respuesta antineoplásica es quercetina (QC). En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, el al menos un agente antineoplásico es Temodar. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención, al menos una porción de la composición farmacéutica está formulada para administración IV o administración oral.

40 En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, la cantidad de Temodar es de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 5000 mg al día. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, la cantidad de quercetina es de 0,1 g a 2,5 g. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, la quercetina está en solución a una concentración de 10 mg/ml a 500 mg/ml. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención, el agente antineoplásico y al menos un modulador de la respuesta antineoplásica están en una única forma farmacéutica para administración conjunta. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención, el agente antineoplásico y al menos un modulador de la respuesta antineoplásica están en una única forma farmacéutica adecuada para administración IV. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención, el agente antineoplásico y al menos un modulador de la respuesta antineoplásica están en una única forma farmacéutica adecuada para administración oral.

45 En algunas realizaciones de la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención, el agente antineoplásico y al menos un modulador de la respuesta antineoplásica se encuentran en formas farmacéuticas separadas. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención, el agente antineoplásico y al menos un modulador de la respuesta antineoplásica se encuentran cada uno en formas farmacéuticas adecuadas para administración IV. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención, el agente antineoplásico y al menos un modulador de la respuesta antineoplásica se encuentran cada uno en formas farmacéuticas adecuadas para administración oral. En algunas realizaciones de la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención, cualquiera del agente antineoplásico o el al menos un modulador de la respuesta antineoplásica está en una forma farmacéutica adecuada para administración oral y el otro está en una forma farmacéutica para administración IV.

50 60 En algunas realizaciones, la neoplasia es uno o más de astrocitomas, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico, glioblastomas, glioblastomas multiformes, meningioma, gliomas, ependimomas, oligodendrogiomas y gliomas mixtos, tumores cerebrales, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC.

- En algunas realizaciones, se proporciona un kit para su uso en la profilaxis, el tratamiento o ambos de una neoplasia, en donde el kit comprende, consiste en o consiste esencialmente en, una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones, en donde la composición farmacéutica está en un único recipiente. En algunas realizaciones del kit para su uso de acuerdo con la invención, cada uno del al menos un agente antineoplásico y el uno o más moduladores están contenidos en un único recipiente en una única forma farmacéutica. En algunas realizaciones del kit para su uso de acuerdo con la invención, cada uno del al menos un agente antineoplásico y el uno o más moduladores están contenidos en subrecipientes separados.
- 5 En algunas realizaciones, se proporcionan las composiciones farmacéuticas o kits divulgados en el presente documento para su uso en el tratamiento, la prevención o ambos de una neoplasia en un sujeto que lo necesite. En algunas realizaciones, es probable que la neoplasia desarrolle resistencia, desarrolla resistencia y/o ya es resistente al menos a un agente antineoplásico. En algunas realizaciones, es probable que la neoplasia desarrolle resistencia, desarrolla resistencia y/o ya es resistente al uno o más moduladores.
- 10 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención se administra al sujeto IV, por vía oral o ambas. En algunas realizaciones, el efecto sobre la neoplasia es un resultado mejorado en comparación con un efecto sobre la neoplasia del al menos un agente antineoplásico solo o del uno o más moduladores solos. En algunas realizaciones, el Temodar se administra en una dosis de aproximadamente 0,0075 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup> de área de superficie corporal. En algunas realizaciones, la quercetina se administra en una dosis de 0,1 g a 2,5 g. En algunas realizaciones, el SPB se administra en una dosis de 0,1 g a 40 g. En algunas realizaciones, el EGCG se administra en una dosis de 0,1 g a 1,5 g.
- 15 En algunas realizaciones, cualquiera de las composiciones, kits, usos para su uso como se divulga en el presente documento induce la apoptosis *in vitro* en al menos una línea celular cancerosa. En algunas realizaciones, la inducción de la apoptosis por la composición es aditiva en comparación con la inducción de apoptosis de cada uno de los agentes antineoplásicos y al menos un modulador solo. En algunas realizaciones, la inducción de la apoptosis por la composición es sinérgica en comparación con la inducción de apoptosis de cada uno de los agentes antineoplásicos y al menos un modulador solo.
- 20 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica, o kit, para su uso de acuerdo con la invención, en donde el modulador está en una formulación de nanopartículas. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica, kit, para su uso de acuerdo con la invención, en donde el agente antineoplásico está en una formulación de nanopartículas. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica, kit, para su uso de acuerdo con la invención, en donde tanto el modulador como el agente antineoplásico están en una formulación de nanopartículas.
- 25
- 30
- 35
- Breve descripción de los dibujos**
- La figura 1 muestra la determinación del tamaño de una realización de Vacío-PLGA-PEG-NP mediante dispersión de luz dinámica (DLS, por sus siglas en inglés) (véase el Ejemplo 1).
- 40 La figura 2 muestra la determinación del tamaño de una realización de FA-PLGA-PEG-NP (PLGA-PEG-NP conjugadas con ácido fólico) mediante DLS (véase el Ejemplo 1).
- La figura 3 muestra la determinación del tamaño de una realización de PLGA-PEG-QC NP (PLGA-PEG NP que encapsulan quercetina) mediante DLS (véase el Ejemplo 1).
- 45 La figura 4 muestra la determinación del tamaño de una realización de FA-PLGA-PEG-QC NP (conjugadas con ácido fólico (PLGAPEG NP que encapsulan quercetina) mediante DLS (véase el Ejemplo 1).
- La figura 5 muestra la determinación del tamaño de una realización de DSPE-PEG-NP (Vacío-DSPE-PEG/PLGA-PEG-NP) por DLS
- 50 La figura 6 muestra la determinación del tamaño de una realización de DSPE-PEG-QC-NP (DSPE-PEG/PLGA-PEG-NP que encapsulan quercetina) mediante DLS (véase el Ejemplo 1).
- La figura 7 muestra la determinación del tamaño de una realización de FA-DSPE-PEG-QC-NP (DSPEPEG conjugadas con ácido fólico/PLGA-PEG-NP que encapsulan quercetina) mediante DLS (véase el Ejemplo 1).
- 55 La figura 8 muestra la síntesis de una realización de nanopartículas de Vacío-PLGA-PEG usando alcohol polivinílico como estabilizante (véase el Ejemplo 2).
- La figura 9 muestra la síntesis de una realización de nanopartículas de Vacío-PLGA-PEG usando ácido desoxicólico como estabilizante (véase el Ejemplo 3).
- 60 La figura 10 muestra la síntesis y optimización de una realización de nanopartículas de PLGA-PEG que encapsulan quercetina (véase el Ejemplo 4).
- La figura 11 muestra la síntesis y optimización de una realización de DSPE-PEG-NP (véase el Ejemplo 5).
- La figura 12 muestra el efecto de una realización de quercetina nanoformulada sobre el peso del tumor (véase el Ejemplo 9).
- 65 La figura 13 muestra el efecto de una única dosis de una realización de quercetina nanoformulada sobre el peso del tumor (véase el Ejemplo 9).
- La figura 14 muestra los efectos secundarios de una realización de FA-NP-QC sobre ratones portadores de tumor (véase el Ejemplo 9).
- 70 La figura 15 muestra una realización de un gráfico de curva estándar para la medición de quercetina (véase el Ejemplo 9).

- La figura 16 muestra una realización de un gráfico de la cantidad de QC en el tumor (véase el Ejemplo 9).  
 La figura 17 muestra una realización de un gráfico de la cantidad de QC en el plasma sanguíneo (véase el Ejemplo 9).
- 5 La figura 18 muestra una realización de un mapa de respuesta tumoral Guardant360 (véase el Ejemplo 17).  
 La figura 19 muestra una realización de un resumen de alteraciones somáticas y opciones de tratamiento asociadas (véase el Ejemplo 17).  
 La figura 20 muestra una realización de un gráfico de los resultados del ensayo de CTC (véase el Ejemplo 17).  
 La figura 21 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de HER-2 antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 18).
- 10 La figura 22 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de CA 15-3 antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 18).  
 La figura 23 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de CA 27.29 antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 18).  
 La figura 24 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de lactato deshidrogenasa (LDH) antes y 15 después del tratamiento (véase el Ejemplo 18).  
 La figura 25 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de VEGF antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 19).  
 La figura 26 muestra una realización de un gráfico de los niveles de CTC antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 19).
- 20 La figura 27 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de LDH antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 19).  
 La figura 28 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de CA 15-3 antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 19).  
 La figura 29 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de CA 27.29 antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 19).  
 La figura 30 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de CEA antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 19).  
 La figura 31 muestra una realización de un gráfico de los niveles séricos de Her-2 antes y después del tratamiento (véase el Ejemplo 19).
- 25 30 La figura 32 muestra una realización de imágenes confocales que muestran la captación de nanopartículas de PLGA-PEG que encapsulan quercetina en células neoplásicas que sobreexpresan el receptor de folato (véase el Ejemplo 6).  
 La figura 33 muestra datos relacionados con el peso del tumor en una realización de un estudio de xenoinjerto que usa una línea celular de cáncer resistente a la quimioterapia (véase el Ejemplo 8).
- 35

### Descripción detallada

Las estadísticas muestran que las muertes causadas por cánceres avanzados de diversos tipos no han cambiado significativamente desde hace una década. De hecho, en algunos casos (por ejemplo, cáncer de pulmón), la tasa de 40 mortalidad está aumentando, especialmente entre las mujeres. Incluso cuando se introducen nuevos agentes antineoplásicos en el mercado para estudios avanzados de la enfermedad, las tasas de supervivencia de los pacientes se han mantenido esencialmente sin cambios. Por otra parte, la toxicidad potencial de muchos agentes antineoplásicos novedosos puede ser un factor devastador tanto para el médico como para el paciente. Además, el desarrollo de resistencia a los agentes antineoplásicos es otra causa de preocupación.

45 Temodar se ha usado en tres categorías en el cáncer:

- (1) Las indicaciones aprobadas de Temodar incluyen melanoma metastásico avanzado (huérfano), glioma de alto grado recién diagnosticado (huérfano), glioblastoma multiforme y astrocitoma anaplásico. Existe información adicional sobre las indicaciones aprobadas de Temodar disponible en Internet en la página web [cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/fda-temozolomide](http://cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/fda-temozolomide).
- 50 (2) El uso en ensayos o extraoficial incluye el uso en otros tipos de cáncer, tales como sarcomas, cánceres de pulmón no microcíticos. Existe información adicional sobre el uso extraoficial de Temodar disponible en Internet en las páginas web [onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.11730/pdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.11730/pdf) y [clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00006877](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00006877).
- 55 (3) Un ejemplo del uso de Temodar en tumores sólidos con enfermedad metastásica del SNC está disponible en Internet en la página web [ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12202665/](http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12202665/). En estos entornos, la tasa de respuesta objetiva más alta en ensayos que combinaron temozolomida (TMZ) con radioterapia fue de 0,959, lograda en el estudio de temozolomida y radioterapia concurrente en pacientes con metástasis cerebrales de cáncer de pulmón avanzado y cáncer de mama.

60 En marzo de 2005, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos aprobó la temozolomida (TMZ; cápsulas de Temodar®, fabricadas por Schering Corporation) para el tratamiento de pacientes adultos con glioblastoma multiforme (GBM) recién diagnosticado de manera concomitante con (al mismo tiempo que) radioterapia y, a continuación, como tratamiento de mantenimiento. El GBM es una forma grave de cáncer cerebral. En relación 65 con el beneficio de supervivencia de Temodar en el glioblastoma, se ha informado que la adición de Temodar solo mejora la supervivencia durante 2,5 meses en el glioblastoma. Por ejemplo, se observó una supervivencia general

significativamente mejorada en pacientes que recibieron TMZ + radioterapia (RT) concomitante y de mantenimiento. El cociente de riesgo (CR) fue de 0,63 (intervalo de confianza del 95 por ciento para CR = 0,52-0,75) con un rango logarítmico  $p <0,0001$  a favor del grupo de modalidad combinada. La supervivencia media fue de 14,6 meses (TMZ + RT) frente a 12,1 meses (RT sola).

- 5 En el presente documento se proporcionan composiciones y/o kits que comprenden, que consisten en, o que consisten esencialmente en, uno o más moduladores de la respuesta antineoplásica junto con uno o más agentes antineoplásicos para su uso en la prevención y/o el tratamiento de neoplasias. En algunas realizaciones, se proporcionan composiciones y/o kits para su uso de acuerdo con la invención que comprenden, que consisten en, o que consisten esencialmente en, uno o más moduladores de la respuesta antineoplásica junto con uno o más agentes antineoplásicos para prevenir y/o tratar neoplasias que son resistentes al uno o más agentes antineoplásicos. En algunas realizaciones, el uno o más agentes antineoplásicos son Temodar. En algunas realizaciones, las neoplasias son uno o más tipos de cáncer cerebral.
- 10 15 También se proporcionan en el presente documento realizaciones de estudios de casos basados en terapias combinadas novedosas que proporcionan resultados clínicos superiores en una diversidad de tipos de tumores. En algunas realizaciones, las terapias combinadas se basan en combinaciones de uno o más moduladores proporcionados en el presente documento y uno o más fármacos para terapias dirigidas proporcionados en el presente documento.
- 20 25 Por lo tanto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica para su uso en la profilaxis, el tratamiento o ambos de una neoplasia, en donde la composición farmacéutica comprende una formulación de nanopartículas que comprende quercetina y al menos un agente antineoplásico, en donde el al menos un agente antineoplásico es Temodar.
- 30 Por otra parte, la presente invención también se refiere a un kit para su uso en la profilaxis, el tratamiento o ambos de una neoplasia, en donde el kit comprende una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, en donde cada uno del al menos un agente antineoplásico y quercetina están contenidos en subrecipientes separados.

#### 30 Población de pacientes

Se proporcionan en el presente documento realizaciones de composiciones y/o kits útiles para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una o más neoplasias en pacientes. Una neoplasia podría ser un tumor, un cáncer, cualquier crecimiento nuevo y/o anómalo que se asemeje a un tumor y/o cáncer, o cualquier combinación de los mismos.

35 40 45 En algunas divulgaciones, a un paciente se le administra uno o más agentes antineoplásicos para prevenir y/o tratar una neoplasia. En algunas realizaciones, el paciente está sin tratar y nunca ha sido tratado previamente con uno o más agentes antineoplásicos. En algunos casos, el paciente puede responder inicialmente al uno o más agentes antineoplásicos, lo que da como resultado una regresión inicial de la neoplasia. Sin embargo, la neoplasia puede volverse resistente al uno o más agentes antineoplásicos, lo que da como resultado una recidiva. En algunas realizaciones, la recidiva también puede tener lugar debido a la interrupción del tratamiento, en cuyo caso la neoplasia recidivante puede ser sensible o no al uno o más agentes antineoplásicos administrados previamente. Por lo tanto, al paciente se le puede volver a administrar el mismo agente antineoplásico o un agente antineoplásico diferente. En algunas realizaciones, el paciente es tratado inicialmente con un primer agente antineoplásico, pero posteriormente es tratado con un segundo agente antineoplásico diferente. Esto puede deberse a varias razones, incluyendo, pero sin limitación, el desarrollo de resistencia al primer agente antineoplásico, efectos adversos del primer agente antineoplásico, etc.

50 Por lo tanto, las realizaciones de las composiciones y/o kits para su uso de acuerdo con la invención que se proporcionan en el presente documento son deseables para pacientes que inicialmente responden pero que eventualmente dejarán de responder a uno o más agentes antineoplásicos, o en pacientes que inicialmente respondieron pero ahora dejaron de responder a uno o más agentes antineoplásicos. Las realizaciones también son deseables para pacientes que no responden porque tienen una neoplasia que es resistente a uno o más agentes antineoplásicos.

55 En algunas realizaciones, el paciente es un hombre o una mujer. Un paciente es típicamente humano pero también se contemplan animales distintos de los seres humanos. Los ejemplos no limitantes de animales distintos de los seres humanos incluyen, sin limitación, animales domésticos, mascotas, animales de experimentación y/o animales comercialmente importantes.

#### 60 Tipos de tumor y/o cáncer

En el presente documento se divultan ejemplos de neoplasias, que podrían ser un tumor, un cáncer, cualquier crecimiento nuevo y/o anómalo que se asemeje a un tumor y/o cáncer, o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la neoplasia es un carcinoma de mama o un adenocarcinoma de mama, o cualquier neoplasia asociada con la mama. En algunas realizaciones, la neoplasia es un carcinoma de pulmón no microcítico o un

adenocarcinoma de pulmón, o cualquier neoplasia asociada con el pulmón. En algunas realizaciones, la neoplasia es un sarcoma del útero, o cualquier neoplasia asociada con el útero. En algunas realizaciones, la neoplasia es un adenocarcinoma pancreático, o cualquier neoplasia asociada con el páncreas. En algunas realizaciones, la neoplasia es un melanoma maligno, o cualquier neoplasia asociada con la piel.

5 En algunas realizaciones, la neoplasia es un glioblastoma, o cualquier neoplasia asociada con el cerebro. En algunas realizaciones, la neoplasia se refiere a uno o más tipos de neoplasia proporcionados en el presente documento.

10 En algunas realizaciones, la neoplasia es un glioblastoma, o cualquier neoplasia asociada con el cerebro. En algunas realizaciones, la neoplasia es uno o más tipos de cáncer cerebral. Los ejemplos no limitantes de uno o más tipos de cáncer cerebral incluyen astrocitomas (por ejemplo, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico), glioblastomas (por ejemplo, glioblastomas multiformes), meningioma, otros gliomas (por ejemplo, ependimomas, oligodendrogiomas y gliomas mixtos) y otros tumores cerebrales (por ejemplo, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC). Véase, [cancercenter.com/brain-cancer/types/tab/overview/](http://cancercenter.com/brain-cancer/types/tab/overview/). En algunas realizaciones, la neoplasia se refiere a uno o más tipos de neoplasia proporcionados en el presente documento.

15 En algunas realizaciones, es probable que la neoplasia se vuelva resistente y/o ya es resistente a uno o más agentes antineoplásicos. Por lo tanto, las realizaciones proporcionadas en el presente documento son particularmente útiles para su uso en la prevención y/o el tratamiento de neoplasias que son resistentes o es probable que se vuelvan resistentes a uno o más agentes antineoplásicos. En algunas realizaciones, la neoplasia no es resistente y/o no es probable que se vuelva resistente a uno o más agentes antineoplásicos. Por lo tanto, las realizaciones proporcionadas en el presente documento son útiles para prevenir y/o tratar neoplasias que no son resistentes y/o no es probable que se vuelvan resistentes a uno o más agentes antineoplásicos mediante la administración de una dosis mínima de uno o más agentes antineoplásicos suficiente para prevenir y/o tratar la neoplasia.

20 Los ejemplos de otras neoplasias incluyen adenocarcinoma de mama, adenocarcinoma pancreático, carcinoma de pulmón, cáncer de próstata, glioblastoma multiforme, cáncer de próstata refractario a hormonas, neoplasias malignas de tumores sólidos tales como carcinoma de colon, cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), astrocitoma anaplásico, carcinoma de vejiga, sarcoma, carcinoma de ovario, hemangiopericitoma rectal, carcinoma pancreático, cáncer avanzado, cáncer de intestino grueso, estómago, páncreas, ovarios, melanoma-cáncer de páncreas, cáncer de colon, cáncer de vejiga, neoplasias malignas hemáticas, carcinomas escamocelulares y cáncer de mama.

25 En algunas realizaciones, la neoplasia es uno o más de adenocarcinoma de mama, adenocarcinoma pancreático, carcinoma de pulmón, cáncer de próstata, glioblastoma multiforme, cáncer de próstata refractario a hormonas, neoplasias malignas de tumores sólidos tales como carcinoma de colon, cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), astrocitoma anaplásico, carcinoma de vejiga, sarcoma, carcinoma de ovario, hemangiopericitoma rectal, carcinoma pancreático, cáncer avanzado, cáncer de intestino grueso, estómago, páncreas, ovarios, melanoma-cáncer de páncreas, cáncer de colon, cáncer de vejiga, neoplasias malignas hemáticas, carcinomas escamocelulares, cáncer de mama, astrocitomas, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico, glioblastomas, glioblastoma multiforme, meningioma, gliomas, ependimomas, oligodendrogiomas y gliomas mixtos, tumores cerebrales, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC.

#### 30 45 Agentes antineoplásicos

Como se usa en el presente documento, un "agente antineoplásico" puede ser un agente antineoplásico, un agente antitumoral, un fármaco antineoplásico y/o un fármaco antitumoral que ralentiza el crecimiento, detiene el crecimiento, provoca una reducción del tamaño, elimina y/o previene la recidiva de una neoplasia.

50 55 En algunas realizaciones, los agentes antineoplásicos se conocen bien en la técnica y, en algunas realizaciones, están aprobados para uso terapéutico y/o uso en ensayos clínicos por agencias gubernamentales (por ejemplo, FDA, EMEA, etc.). La dosificación, la vía de administración, la eficacia contra tipos de neoplasia conocidos, los efectos secundarios/adversos, el mecanismo de acción, etc., de los agentes antineoplásicos también pueden ser bien conocidos en la técnica. En otras realizaciones, el agente antineoplásico es un compuesto que se cree que tiene efectos antineoplásicos (por ejemplo, sin limitación, *in vitro*, *in vivo* y/o *ex vivo* en un laboratorio y/o en un ensayo clínico en seres humanos), pero que aún no está aprobado por una agencia gubernamental para el tratamiento del cáncer. Un ejemplo de un agente antineoplásico incluye Temodar.

#### 60 Moduladores de la respuesta antineoplásica

Como se usa en el presente documento, un "modulador de la respuesta antineoplásica" (también denominado en el presente documento "modulador") mejora el efecto antineoplásico de un agente antineoplásico conocido o novedoso contra una neoplasia cuando se usa junto con uno o más de los moduladores divulgados en el presente documento.

65 En algunas realizaciones, el agente antineoplásico puede no tener ningún efecto en ausencia del modulador. En algunas realizaciones, el agente antineoplásico mejora la actividad antineoplásica del modulador. En algunas

realizaciones, el modulador mejora la actividad antineoplásica del agente antineoplásico. En algunos casos, los dos trabajan en conjunto para mejorar la actividad antineoplásica de cada uno. En algunas realizaciones, es probable que la neoplasia desarrolle resistencia, desarrolla resistencia y/o ya es resistente al agente antineoplásico conocido o novedoso. En algunas realizaciones, es probable que la neoplasia desarrolle resistencia, desarrolla resistencia y/o ya es resistente a uno o más moduladores.

5 Se contemplan varias realizaciones de moduladores. Los ejemplos de moduladores incluyen aquellos que mejoran el efecto de los agentes antineoplásicos, incluyendo, pero sin limitación, los agentes antineoplásicos que son eficaces contra uno o más tipos de neoplasia pero ineficaces contra uno o más tipos de neoplasias diferentes.

10 Por lo tanto, los moduladores mejoran el efecto de los agentes antineoplásicos en un paciente que puede no responder a un agente antineoplásico particular o el agente antineoplásico puede ser ineficaz en un paciente con un tipo particular de neoplasia incluso antes del inicio del tratamiento con el agente antineoplásico. El modulador puede mejorar el efecto de los agentes antineoplásicos en un paciente que puede responder inicialmente a un agente antineoplásico

15 particular o el agente antineoplásico puede ser inicialmente eficaz en un paciente con un tipo particular de neoplasia pero puede llegar a ser ineficaz. En algunas realizaciones, el modulador puede mejorar el efecto de los agentes antineoplásicos en un paciente con una recidiva de la neoplasia.

20 Un ejemplo de moduladores incluye quercetina. La quercetina es un flavonol que se encuentra en muchas frutas, hortalizas, hojas y cereales. Se puede usar como ingrediente en complementos, bebidas o alimentos. La quercetina es uno de los flavonoides dietéticos más abundantes con un consumo diario promedio de 25-50 mg. Los moduladores proporcionados en el presente documento no son tóxicos y/o son mínimamente tóxicos sin efectos secundarios o con efectos secundarios mínimos.

25 Dosis de modulador

En algunas realizaciones, la quercetina para su uso de acuerdo con la invención se administra por vía intravenosa. La concentración de quercetina en una solución para administración intravenosa es de aproximadamente 5 mg/ml a aproximadamente 500 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración de quercetina en una solución para 30 administración intravenosa es de aproximadamente 50 mg/ml. En algunas realizaciones, la quercetina se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 0,05 g a aproximadamente 10 g. En algunas realizaciones, la quercetina se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 0,5 g a aproximadamente 1 g. En algunas realizaciones, la quercetina se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 o 10 g, o dentro de un 35 intervalo definido por dos cualesquiera de los valores mencionados anteriormente.

En algunas realizaciones, la quercetina para su uso de acuerdo con la invención se administra por vía oral. La cantidad de quercetina en una composición para administración oral es de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 10 g. En algunas realizaciones, la quercetina se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 0,5 g a 40 aproximadamente 4 g. En algunas realizaciones, la quercetina se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 1 g. En algunas realizaciones, la quercetina se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 g, o dentro de un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, la composición para su uso de acuerdo con la invención para 45 administración oral se puede preparar en una solución para administración intravenosa, en donde la concentración de quercetina es de aproximadamente 10 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml. En algunas realizaciones, la quercetina para su uso de acuerdo con la invención se administra en una formulación liposomal. En algunas realizaciones, la quercetina para su uso de acuerdo con la invención se administra en una formulación liposomal a una dosis de 50 mg al día. En algunas realizaciones, la quercetina para su uso de acuerdo con la invención se administra en una 50 formulación liposomal a una dosis de aproximadamente 25 mg al día a aproximadamente 75 mg al día. En algunas realizaciones, la quercetina para su uso de acuerdo con la invención se administra en una formulación liposomal a aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 mg al día, o dentro de un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores mencionados anteriormente.

55 En algunas realizaciones, la quercetina por sí sola no es soluble en agua y, por lo tanto, se administra en una forma farmacéutica oral. En algunas realizaciones, la quercetina está disponible en forma de propilenglicol-quercetina (quercetina PG) y propilenilenglicol-quercetina (quercetina PEG). La quercetina PG es soluble en agua y se usa en la clínica como una forma farmacéutica IV.

60 Combinaciones

65 Se observó un efecto antineoplásico sorprendente e inesperado cuando se usaron uno o más agentes antineoplásicos junto con uno o más moduladores proporcionados en el presente documento. El resultado sorprendente e inesperado fue un resultado mejor de lo esperado en donde la eficacia del uno o más agentes antineoplásicos mejoró cuando se usaron junto con uno o más moduladores en comparación con el agente antineoplásico en ausencia del uno o más moduladores. La potenciación se logró mediante la administración conjunta del uno o más agentes antineoplásicos y

uno o más moduladores.

Por lo tanto, en el presente documento se proporcionan combinaciones de uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores para su uso de acuerdo con la invención. El uno o más moduladores pueden mejorar el efecto de uno o más agentes antineoplásicos contra uno o más tipos de neoplasias proporcionados en el presente documento.

5 La potenciación puede producirse de varias maneras. Los ejemplos no limitantes incluyen mejorar la eficacia de un agente antineoplásico ya eficaz, hacer que un agente antineoplásico ineficaz sea eficaz (el agente antineoplásico también podría haber sido eficaz previamente pero volverse ineficaz después del uso a largo plazo y/o corto plazo en un paciente), aumentar el período de tiempo durante el cual un agente antineoplásico es eficaz, disminuir la dosis 10 eficaz de administración del agente antineoplásico, disminuir la duración durante la cual se administra el agente antineoplásico, disminuir la frecuencia de administración de un agente antineoplásico y/o permitir la administración del agente antineoplásico a través de una vía más adecuada.

15 El uno o más agentes antineoplásicos para su uso de acuerdo con la invención se pueden proporcionar en cualquier dosis, a través de cualquiera de las vías de administración, en cualquier orden de administración, a cualquier frecuencia de administración y/o cualquier forma farmacéutica proporcionada en el presente documento. De manera similar, el uno o más moduladores para su uso de acuerdo con la invención se pueden proporcionar en cualquier dosis, a través de cualquiera de las vías de administración, en cualquier orden de administración, a cualquier frecuencia de administración y/o cualquier forma farmacéutica proporcionada en el presente documento. Además, la combinación 20 de uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores para su uso de acuerdo con la invención se puede proporcionar en cualquier dosis, a través de cualquiera de las vías de administración, en cualquier orden de administración, a cualquier frecuencia de administración y/o cualquier forma farmacéutica proporcionada en el presente documento.

25 Las combinaciones pueden comprender, consistir en, consistir esencialmente en, uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores. En algunas realizaciones, la combinación comprende, consiste en o consiste esencialmente en, uno o más agentes antineoplásicos y un modulador seleccionado de quercetina. En algunas realizaciones, la combinación comprende, consiste en o consiste esencialmente en, uno o más agentes antineoplásicos y al menos un modulador. En algunas realizaciones, el al menos un modulador se selecciona de quercetina. Por ejemplo, en algunas 30 realizaciones, la combinación puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, el agente antineoplásico y quercetina. En algunas realizaciones, la combinación comprende, consiste en o consiste esencialmente en, uno o más agentes antineoplásicos y un modulador. En algunas realizaciones, el agente antineoplásico es Temodar.

35 La potenciación puede ser aditiva o sinérgica. Un efecto sinérgico es mayor que un efecto aditivo. Se observa un efecto aditivo cuando la potenciación es igual a la suma de los efectos individuales del uno o más agentes antineoplásicos y el modulador. Se observa un efecto sinérgico cuando la potenciación es mayor que la suma de los efectos individuales del agente antineoplásico y el modulador. El efecto sinérgico, el efecto aditivo o ambos pueden producirse en pacientes humanos, pacientes no humanos, voluntarios humanos no pacientes, modelos *in vivo*, modelos *ex vivo*, modelos *in vitro*, etc.

40 40 La potenciación puede variar de aproximadamente <1 a aproximadamente 100 veces. En algunas realizaciones, el efecto sinérgico es de aproximadamente 3 a aproximadamente 30 veces. En algunas realizaciones, la potenciación varía de <1, 1, >1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 veces, o dentro de un intervalo definido por dos cualesquier de los valores mencionados anteriormente.

45 45 En algunas realizaciones, un efecto sinérgico permite una reducción en el requisito de un agente antineoplásico a razón de aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 75 % de la dosis recomendada. En algunas realizaciones, un efecto sinérgico permite una reducción en el requisito de un agente antineoplásico a aproximadamente el 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o el 95 % de la dosis recomendada, o un valor dentro de un intervalo definido por dos cualesquier de los valores mencionados anteriormente.

55 Por ejemplo, la combinación de Temodar con quercetina puede producir un efecto sinérgico sobre una neoplasia en comparación con Temodar solo.

55 De acuerdo con la divulgación, se observa una respuesta aditiva y/o sinérgica o sostenida a una terapia combinada. Por lo tanto, se pretende que "terapia combinada" abarque la administración de estos agentes terapéuticos de manera secuencial, en donde cada agente terapéutico se administra en un momento diferente, así como la administración de estos agentes terapéuticos, o al menos dos de los agentes terapéuticos de manera concurrente, o de manera sustancialmente simultánea. La administración simultánea se puede lograr, por ejemplo, administrando al sujeto una única forma farmacéutica, por ejemplo, una solución, píldora o cápsula, que tenga una relación fija de cada agente terapéutico o en múltiples formas farmacéuticas únicas para cada uno de los agentes terapéuticos. La administración secuencial o sustancialmente simultánea de cada agente terapéutico se puede efectuar por cualquier vía apropiada incluyendo, pero sin limitación, vías orales, vías intravenosas, vías intramusculares y absorción directa a través de los tejidos de la membrana mucosa.

65 65 De acuerdo con la divulgación, las mezclas de composiciones de la presente invención también se pueden administrar

- al paciente como una mezcla simple o en composiciones farmacéuticas formuladas adecuadas. Por lo tanto, la terapia combinada se puede lograr administrando dos o más agentes, por ejemplo, dos o más agentes terapéuticos diferentes, cada uno de los cuales se formula y se administra por separado, o administrando dos o más agentes en una única formulación. También se abarcan otras combinaciones por la terapia combinada. Por ejemplo, se pueden formular dos agentes juntos y administrarse conjuntamente con una formulación separada que contenga un tercer agente. Aunque los dos o más agentes en la terapia combinada se pueden administrar simultáneamente, no es necesario. Por ejemplo, la administración de un primer agente (o combinación de agentes) puede preceder a la administración de un segundo agente (o combinación de agentes) en minutos, horas, días o semanas. Por lo tanto, los dos o más agentes se pueden administrar con una diferencia de minutos entre sí o con 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18 o 24 horas entre sí o con 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 días entre sí o con 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 semanas entre sí. En algunos casos son posibles intervalos incluso más largos. Aunque en muchos casos es deseable que dos o más agentes usados en la terapia combinada estén presentes en el cuerpo del paciente al mismo tiempo, esto no tiene por qué ser así en otros casos.
- 5 La potenciación se puede medir en uno o más ensayos que miden efectos tales como apoptosis, cambios metabólicos celulares, cambios morfológicos celulares, etc., u otros efectos que serían bien conocidos por un experto en la materia. En algunas realizaciones, la combinación de uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores provoca una inducción de la apoptosis, que se puede medir usando el ensayo MiCK® (Ejemplo 20). En algunas realizaciones, el modulador puede suprimir la angiogénesis dentro/alrededor de la neoplasia. Por ejemplo, la quercetina puede provocar la supresión de la angiogénesis en células de glioma.
- 10 15 20 25 Sin embargo, cuando el modulador proporcionado en el presente documento se administra junto con uno o más agentes antineoplásicos, se observa un efecto antineoplásico sinérgico. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se observa un efecto antineoplásico sinérgico cuando el modulador proporcionado en el presente documento se administra conjuntamente con el uno o más agentes antineoplásicos proporcionados en el presente documento. Por ejemplo, se observa un efecto antineoplásico sinérgico cuando se administra conjuntamente quercetina-PG con Temodar (véase el Ejemplo 15-Ejemplo 19). (Véase el Ejemplo 15 y el Ejemplo 17-Ejemplo 19).
- 30 35 De acuerdo con la divulgación, la vía de administración del uno o más moduladores y el uno o más agentes antineoplásicos se puede determinar por un experto en la técnica basándose en las circunstancias. Son posibles varias vías de administración, incluyendo parenteral, subcutánea, intraarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginosa, intracavitaria, intracelial, intracerebelosa, intracerebroventricular, intracólica, intracervical, intragástrica, intrahepática, intramiocárdica, intraóstea, intrapélvica, intrapericárdica, intraperitoneal, intrapleural, intraprostática, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intraspinovial, intratorácica, intrauterina, intravesical, intralesional, bolos, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmica.
- 40 45 50 Cualquier vía de administración proporcionada en el presente documento se puede usar para la combinación de uno o más agentes antineoplásicos y un modulador o para los componentes individuales de la combinación. Por ejemplo, la combinación de agente antineoplásico y modulador se puede administrar por vía intravenosa, oral o ambas. En algunas realizaciones, uno o más componentes en la combinación se pueden administrar a través de una vía (por ejemplo, por vía intravenosa) y los demás componentes se pueden administrar a través de una vía diferente (por ejemplo, por vía oral). En algunas realizaciones, todos los componentes de la combinación se administran a través de la misma vía (por ejemplo, por vía intravenosa u oral). El agente antineoplásico y los moduladores se pueden administrar por cualquier combinación de vías intravenosa y oral como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1 - Combinaciones que comprenden, que consisten en, o que consisten esencialmente en, un agente antineoplásico y un modulador (S1).

Combinación	Vía de administración		
	Agente antineoplásico	S1	
1	IV	IV	
2	Oral	IV	
3	IV	Oral	
4	IV	IV	
5	Oral	Oral	
6	Oral	IV	
7	IV	Oral	
8	Oral	Oral	

En la Tabla 1, el agente antineoplásico es Temodar, S1 es quer cetina.

#### Orden de administración de acuerdo con la divulgación

- 5 Se puede usar cualquier orden de administración para el uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores en una combinación. Por ejemplo, el uno o más agentes antineoplásicos y el uno o más moduladores en la combinación se pueden administrar de forma simultánea o secuencial. Por ejemplo, todos los componentes de la combinación se administran de manera simultánea, o solo algunos de los componentes de la combinación se administran de forma simultánea y el resto se administran de manera secuencial. Como alternativa, ninguno de los componentes se administra de manera simultánea, es decir, todos los componentes se administran de manera secuencial. Cuando se administra de manera secuencial, se puede usar cualquier orden de administración. Por ejemplo, cuando se administra una combinación de un agente antineoplásico y dos moduladores, el agente antineoplásico se puede administrar primero seguido de los dos moduladores ya sea de manera simultánea o secuencial en cualquier orden, o los dos moduladores se pueden administrar primero ya sea de manera simultánea o secuencial en cualquier orden seguidos del agente antineoplásico, o uno de los moduladores se puede administrar antes y después de la administración del agente antineoplásico. Son posibles y se contemplan órdenes de administración adicionales cuando la combinación comprende, consiste en o consiste esencialmente en, componentes adicionales, por ejemplo, un tercer modulador.

#### Frecuencia de administración de acuerdo con la divulgación

- 20 La frecuencia de administración del agente antineoplásico es como se conoce en la técnica. La frecuencia de administración del agente antineoplásico se puede variar dependiendo de diversos parámetros tales como el nivel de potenciación, el pronóstico después de la administración de una combinación proporcionada en el presente documento, el cumplimiento del paciente, los efectos secundarios, etc., por ejemplo, diariamente, semanalmente, quincenalmente, mensualmente, bimensualmente o como se conoce en la técnica. Los moduladores se pueden administrar junto con el agente antineoplásico diariamente, semanalmente, quincenalmente, mensualmente, bimensualmente, con menor frecuencia en comparación con el agente antineoplásico, o con mayor frecuencia en comparación con el agente antineoplásico.

- 25 La administración puede ser diaria, o 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más veces a la semana, o con mayor o menor frecuencia según se requiera. La administración se puede proporcionar como una dosis única o como dosis divididas, de modo que una dosis diaria se puede administrar en 2, 3, 4 o más porciones en un solo día.

- 30 35 La administración conjunta de los componentes de una combinación puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, administrar los componentes simultáneamente, o en aproximadamente 1, 5, 15, 30, 45 o 60 minutos entre sí, o dentro de cualquier intervalo definido por los valores mencionados anteriormente. La administración conjunta de los componentes de una combinación puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, administrar los componentes en un intervalo de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 6 horas entre sí, o dentro de cualquier intervalo definido por los valores mencionados anteriormente.

#### Formulaciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la invención

- 40 45 50 En algunas realizaciones, se proporcionan formulaciones farmacéuticas para su uso en profilaxis, el tratamiento o ambos de una neoplasia. La formulación puede ser una única composición para administración conjunta que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, al menos un agente antineoplásico y uno, dos, tres o más moduladores. En algunas realizaciones, la formulación comprende, consiste en o consiste esencialmente en, más de una composición, por ejemplo, el agente antineoplásico en una forma farmacéutica, y el uno o más moduladores en una segunda, tercera o cuarta forma farmacéutica. Se contemplan varias composiciones. El tipo de composición a administrar se puede determinar por un experto en la técnica basándose en las circunstancias en las que se desea la administración.

Las composiciones proporcionadas en el presente documento comprenden, consisten en, consisten esencialmente

- en, principios activos, principios inactivos, excipientes, aditivos y/o portadores farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de aditivos incluyen compuestos poliméricos naturales, sales inorgánicas, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, tensioactivos, espesantes, agentes de recubrimiento, ajustadores del pH, antioxidantes, agentes saporíferos, conservantes y colorantes, entre otros. Los ejemplos de otros portadores farmacéuticamente aceptables incluyen portadores líquidos tales como agua, alcohol, emulsión y portadores sólidos tales como gel, polvo, etc. Se pueden usar técnicas e ingredientes de formulación farmacéutica estándar, tales como los divulgados en Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21.<sup>a</sup> Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2005).
- 5 Las composiciones para administración intravenosa comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, excipientes y portadores farmacéuticamente aceptables, incluyendo uno o más de cloruro de sodio, dextrosa y agua estéril. Las composiciones pueden comprender, consistir en, consistir esencialmente en, soluciones inyectables estériles isotónicas acuosas, que pueden comprender, consistir en, consistir esencialmente en, uno o más de antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes.
- 10 Las composiciones para administración oral pueden ser cualquier forma farmacéutica que sea adecuada para la ingestión oral, por ejemplo, composiciones líquidas tales como elixir, suspensión, jarabe, emulsión, ampolla, etc., composiciones sólidas tales como gel, goma, gota, polvo, gránulo, píldora, comprimido recubierto de azúcar, comprimido recubierto con película, cápsula, agente de envasado, etc. También se contemplan composiciones de liberación sostenida tales como composiciones recubiertas de gel, composiciones multicapa, composiciones de liberación localizada.
- 15 Las composiciones para administración oral pueden ser cualquier forma farmacéutica que sea adecuada para la ingestión oral, por ejemplo, composiciones líquidas tales como elixir, suspensión, jarabe, emulsión, ampolla, etc., composiciones sólidas tales como gel, goma, gota, polvo, gránulo, píldora, comprimido recubierto de azúcar, comprimido recubierto con película, cápsula, agente de envasado, etc. También se contemplan composiciones de liberación sostenida tales como composiciones recubiertas de gel, composiciones multicapa, composiciones de liberación localizada.
- 20 En algunas realizaciones, las composiciones para su uso de acuerdo con la invención se administran por infusión intravenosa. Las composiciones se pueden presentar en envases sellados de dosis unitaria o multidosis, tales como ampollas y/o viales. Las soluciones y suspensiones para inyección se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y/o comprimidos estériles. En algunas realizaciones, las composiciones a administrar se pueden formular como formulaciones farmacéuticas para suministro a través de una o más de las vías proporcionadas en el presente documento.
- 25 Una composición para su uso de acuerdo con la invención puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, una combinación de uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores, en donde el uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores pueden estar presentes en cualquier forma farmacéutica. Por ejemplo, en una composición que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, una combinación de un agente antineoplásico y dos moduladores, los tres componentes pueden estar en la misma forma farmacéutica (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral), o uno de los componentes en la combinación puede ser de una forma farmacéutica (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral) y los otros dos componentes en la combinación pueden ser de una forma farmacéutica diferente (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral). En algunas realizaciones, los tres componentes en la combinación pueden ser de una forma farmacéutica diferente (por ejemplo, para administración intravenosa, para administración oral y una tercera forma farmacéutica).
- 30 Una composición para su uso de acuerdo con la invención puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, una combinación de uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores, en donde el uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores pueden estar presentes en cualquier forma farmacéutica. Por ejemplo, en una composición que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, una combinación de un agente antineoplásico y dos moduladores, los tres componentes pueden estar en la misma forma farmacéutica (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral), o uno de los componentes en la combinación puede ser de una forma farmacéutica (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral) y los otros dos componentes en la combinación pueden ser de una forma farmacéutica diferente (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral). En algunas realizaciones, los tres componentes en la combinación pueden ser de una forma farmacéutica diferente (por ejemplo, para administración intravenosa, para administración oral y una tercera forma farmacéutica).
- 35 Una composición para su uso de acuerdo con la invención puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, una combinación de uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores, en donde el uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores pueden estar presentes en cualquier forma farmacéutica. Por ejemplo, en una composición que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, una combinación de un agente antineoplásico y dos moduladores, los tres componentes pueden estar en la misma forma farmacéutica (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral), o uno de los componentes en la combinación puede ser de una forma farmacéutica (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral) y los otros dos componentes en la combinación pueden ser de una forma farmacéutica diferente (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral). En algunas realizaciones, los tres componentes en la combinación pueden ser de una forma farmacéutica diferente (por ejemplo, para administración intravenosa, para administración oral y una tercera forma farmacéutica).
- 40 Una composición para su uso de acuerdo con la invención puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, una combinación de uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores, en donde el uno o más agentes antineoplásicos y uno o más moduladores pueden estar presentes en cualquier forma farmacéutica. Por ejemplo, en una composición que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, una combinación de un agente antineoplásico y dos moduladores, los tres componentes pueden estar en la misma forma farmacéutica (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral), o uno de los componentes en la combinación puede ser de una forma farmacéutica (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral) y los otros dos componentes en la combinación pueden ser de una forma farmacéutica diferente (por ejemplo, para administración intravenosa o para administración oral). En algunas realizaciones, los tres componentes en la combinación pueden ser de una forma farmacéutica diferente (por ejemplo, para administración intravenosa, para administración oral y una tercera forma farmacéutica).
- 45 Por ejemplo, en una composición que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, una combinación de Temodar como agente antineoplásico y quercetina como modulador, todos pueden estar en una forma farmacéutica intravenosa u oral, Temodar puede estar en una forma farmacéutica intravenosa y la quercetina puede estar en una forma farmacéutica oral, o Temodar puede estar en una forma farmacéutica oral y la quercetina puede estar en una forma farmacéutica intravenosa.
- 50 Kits
- 55 En la medida en que puede ser deseable administrar una combinación proporcionada en el presente documento, por ejemplo, con el fin de prevenir y/o tratar una neoplasia, está dentro del alcance de la presente divulgación proporcionar los componentes de una combinación como un kit de modo que los componentes de la combinación sean adecuados para la administración conjunta.
- 60 Se proporciona un kit que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, uno o más agentes antineoplásicos a usar junto con un modulador.
- 65 Los componentes se pueden proporcionar por separado, en recipientes separados, o en compartimentos separados de un frasco dividido o envase de aluminio dividido (por ejemplo, un blister usado para el envasado de comprimidos, cápsulas, etc.).
- 70 El kit es particularmente adecuado para administrar diferentes formas farmacéuticas, por ejemplo, oral e intravenosa, para administrar los componentes en diferentes intervalos de dosificación, y/o para la valoración de los componentes entre sí. El kit típicamente comprende, consiste en o consiste esencialmente en, instrucciones para la administración y puede proporcionarse adicionalmente de una ayuda mnemotécnica para asegurar el cumplimiento.

5 Los componentes del kit pueden existir en forma disuelta, forma no disuelta o una combinación de las mismas. Si está presente en forma no disuelta, el componente no disuelto puede combinarse con otro componente presente en una forma disuelta en una cantidad estequiométrica específica antes de su uso. Si todos los componentes están presentes en una forma no disuelta, los componentes pueden administrarse tal cual (por ejemplo, por vía oral) o disolverse en un disolvente (por ejemplo, agua) antes de la administración (por ejemplo, por vía intravenosa).

10 En algunas realizaciones, el kit comprende, consiste en o consiste esencialmente en, Temodar como el agente antineoplásico que se usará junto con quercetina como modulador.

10 Temodar

15 La temozolomida (TMZ; nombres comerciales Temodar, Temodal y Temcad) es un fármaco quimioterápico oral. Es un agente alquilante usado para tratar determinados cánceres cerebrales. Se usa como tratamiento de primera línea para el glioblastoma multiforme y como tratamiento de segunda línea para el astrocitoma.

20 En algunas realizaciones, la cantidad de Temodar varía entre aproximadamente 20 mg y aproximadamente 2000 mg al día. En algunas realizaciones, la cantidad de Temodar varía entre aproximadamente 8 mg y aproximadamente 5000 mg al día. En algunas realizaciones, la cantidad de Temodar es de aproximadamente 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 25, 50, 75, 100, 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 o 5000 mg al día, o dentro de un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, la dosis de Temodar es de aproximadamente 0,0075 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 20 mg/m<sup>2</sup>. En algunas realizaciones, la dosis de Temodar es de aproximadamente 0,0015 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup>. En algunas realizaciones, la dosis de Temodar es de aproximadamente 0,0015, 0,003, 0,006, 0,012, 0,024, 0,036, 0,048, 0,060, 0,072, 0,084, 0,096, 0,2, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 6, 12, 18, 24, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 mg/m<sup>2</sup>, o dentro de un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores mencionados anteriormente.

30 También se han descrito otras pautas de Temodar intravenoso y oral. Las dosificaciones deben ajustarse de acuerdo con un indicador objetivo para regular la dosificación, por ejemplo, evidencia de actividad antitumoral, leucopenia o ambas. El recuento total de leucocitos es un buen indicador objetivo para regular la dosificación.

35 Temodar es eficaz solo para neoplasias malignas susceptibles. Sin embargo, Temodar se puede usar de manera concurrente o secuencial con uno o más fármacos antineoplásicos. Cuando Temodar se incluye en pautas citotóxicas combinadas, las dosis de Temodar, así como las de los otros fármacos, se ajustan en consecuencia, como saben los expertos en la técnica.

40 Las composiciones y/o kits proporcionados en el presente documento se pueden usar para tratar neoplasias. En algunas realizaciones, la neoplasia es uno o más tipos de cáncer cerebral. Los ejemplos de uno o más tipos de cáncer cerebral incluyen glioblastoma, o cualquier neoplasia asociada con el cerebro, astrocitomas (por ejemplo, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico), glioblastomas (por ejemplo, glioblastomas multiformes), meningioma, otros gliomas (por ejemplo, ependimomas, oligodendroglomas y gliomas mixtos) y otros tumores cerebrales (por ejemplo, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC). Véase [cancercenter.com/brain-cancer/types/tab/overview/](http://cancercenter.com/brain-cancer/types/tab/overview/). En algunas realizaciones, las neoplasias son sarcomas, cánceres de pulmón no microcíticos, tumores sólidos con enfermedad metastásica del SNC. En algunas realizaciones, las neoplasias se refieren a uno o más tipos de neoplasia proporcionados en el presente documento. célula) leucemia, micosis fungoide (enfermedad avanzada), neuroblastoma (enfermedad diseminada), adenocarcinoma de ovario, retinoblastoma, carcinoma de mama, cáncer de mama triple negativo y síndrome nefrótico de cambios mínimos comprobado por biopsia en pacientes pediátricos que no respondieron adecuadamente a la terapia con adrenocorticosteroides o que no pueden tolerarla.

50 En una realización, la combinación comprende, consiste en o consiste esencialmente en, Temodar y quercetina.

55 En algunas realizaciones, la cantidad de Temodar varía entre aproximadamente 20 mg y aproximadamente 2000 mg al día. En algunas realizaciones, la cantidad de Temodar varía entre aproximadamente 8 mg y aproximadamente 5000 mg al día. En algunas realizaciones, la cantidad de Temodar es de aproximadamente 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 25, 50, 75, 100, 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 o 5000 mg al día, o dentro de un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, la dosis de Temodar es de aproximadamente 0,0075 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 20 mg/m<sup>2</sup>. En algunas realizaciones, la dosis de Temodar es de aproximadamente 0,0015 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup>. En algunas realizaciones, la dosis de Temodar es de aproximadamente 0,0015, 0,003, 0,006, 0,012, 0,024, 0,036, 0,048, 0,060, 0,072, 0,084, 0,096, 0,2, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 6, 12, 18, 24, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 mg/m<sup>2</sup>, o dentro de un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores mencionados anteriormente.

65 Las dosis de quercetina para administración intravenosa pueden ser cualquiera de las dosis proporcionadas en el presente documento. Por ejemplo, las dosis de quercetina para administración intravenosa incluyen de 0,5 g a 1 g.

En algunas realizaciones, las combinaciones en el presente documento se proporcionan como composiciones y/o kits para su uso en la prevención de neoplasias en pacientes y/o para su uso en el tratamiento de neoplasias en pacientes. Cualquiera de las dosis, vías de administración, frecuencia de administración, secuencia de administración, etc., proporcionadas en el presente documento se pueden usar para los componentes de las combinaciones.

5 La dosis, la vía de administración, el mecanismo de acción, etc., de Temondar se conocen bien en la técnica. La dosis de Temondar puede variar dependiendo, entre otros aspectos, la edad del paciente, la vía de administración, el tipo de neoplasia, etc.

10

#### Formulaciones de nanopartículas

En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención se formula como una o más de una formulación de nanopartículas, una formulación liposomal o conjugados de receptor de ácido fólico. Las 15 formulaciones de nanopartículas tienen muchas ventajas sobre las formas farmacéuticas tradicionales, tales como propiedades de disolución mejoradas y potencial para el suministro intracelular eficiente de fármacos. Las nanopartículas tienen propiedades físicas y químicas únicas que ofrecen varias ventajas como portadores de suministro de fármacos, o "nanoportadores". La composición a base de nanopartículas para la detección y/o el 20 tratamiento de cánceres puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, nanopartículas en forma de, sin limitaciones, puntos cuánticos, nanopartículas magnéticas, nanocapas de oro (que son útiles para detectar tumores y metástasis en muchos tumores sólidos), nanopartículas a base de poli(lactida-co-glicólido) (PLGA) (por ejemplo, nanopartículas de PLGA/montmorillonita (PLGA/MMT), nanopartículas de PLGA emulsionadas con vitamina E-TPGS, nanopartículas de PLGA-mPEG), dendrímeros y nanopartículas SPIO y USPIO. Véase, Mousa S.A. y Bharali D.J., 25 Nanotechnology-Based Detection and Targeted Therapy in Cancer: Nano-Bio Paradigms and Applications, Cancers (Basel), Vol. 3, N.º 3, págs. 2888-2903, septiembre de 2011. Se proporcionan otros ejemplos basados en nanopartículas en Bharali D.J. y Mousa S.A., Emerging nanomedicines for early cancer detection and improved treatment: current perspective and future promise, Pharmacology & Therapeutics, Vol. 128, N.º 2, págs. 324-335, noviembre de 2010 y Bharali D.J., *et al.*, Nanoparticles and cancer therapy: a concise review with emphasis on dendrimers, International Journal of Nanomedicine, Vol. 4, págs. 1-7, 1 de abril de 2009. Las 30 composiciones farmacéuticas también se pueden formular como composiciones basadas en nanomicelas, por ejemplo, como se proporciona en el documento US 9.308.270 B2ty. Conjugados de receptor de ácido fólico basados en la conjugación de una molécula/fármaco con ácido fólico para formar un "conjugado de folato". Debido a la alta afinidad natural del folato por la proteína del receptor de folato expresada comúnmente en la superficie de muchos cánceres humanos, los conjugados de folato se unen firmemente a la proteína del receptor de folato y desencadenan la absorción celular 35 a través de endocitosis. Se pueden suministrar con éxito diversas moléculas/fármacos dentro de las células y tejidos que expresan la proteína del receptor de folato. Las formulaciones liposomales comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, liposomas que se usan como vehículos para la administración de fármacos. Los liposomas están compuestos con mayor frecuencia por fosfolípidos, especialmente fosfatidilcolina, pero también pueden incluir cualquier lípido que sea compatible con una estructura de bicapa lipídica (por ejemplo, como fosfatidiletanolamina de 40 huevo). Una formulación liposomal puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, liposomas que pueden emplear ligandos de superficie para unirse a tejido no sano. Los principales tipos de liposomas son vesículas multilamelares con varias bicapas lipídicas de fase lamelar, vesículas liposomales unilamelares pequeñas con una bicapa lipídica, vesículas unilamelares grandes y vesículas cocleadas.

45 En algunas realizaciones, se proporcionan formulaciones de nanopartículas. Las formulaciones de nanopartículas comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, uno o más agentes antineoplásicos y/o uno o más moduladores, en donde el uno o más agentes antineoplásicos y/o uno o más moduladores pueden estar presentes en cualquier forma farmacéutica, por ejemplo, líquidos para inyección o administración oral, o píldoras o cápsulas. En algunas realizaciones, las nanopartículas contienen un solo compuesto, es decir, un agente antineoplásico o un 50 modulador (por ejemplo, Temondar y quercetina).

55 En algunas realizaciones, las formulaciones de nanopartículas comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, al menos un compuesto como nanopartículas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, cuando las formulaciones de nanopartículas comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, dos compuestos (es decir, Temondar + quercetina, en donde al menos un compuesto está presente como nanopartículas. En algunas realizaciones, cuando las formulaciones de nanopartículas comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, dos compuestos (es decir, Temondar + quercetina, ambos compuestos están presentes como nanopartículas. En algunas realizaciones, las formulaciones de nanopartículas comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, nanopartículas que contienen un solo compuesto, es decir, un agente antineoplásico o un modulador (es decir, nano-Temondar, nano-quercetina. En algunas realizaciones, las formulaciones de nanopartículas comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, nanopartículas que contienen dos compuestos (es decir, nano-Temondar + nano-quercetina).

60 En algunas realizaciones, se proporcionan en el presente documento formulaciones de nanopartículas para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una o más neoplasias. En algunas realizaciones, la una o más neoplasias son uno o más tipos de cáncer cerebral. Los ejemplos no limitantes de uno o más tipos de cáncer cerebral incluyen astrocitomas (por ejemplo, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico),

glioblastomas (por ejemplo, glioblastomas multiformes), meningioma, otros gliomas (por ejemplo, ependimomas, oligodendrogliomas y gliomas mixtos) y otros tumores cerebrales (por ejemplo, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC). Véase, cancercenter.com/brain-cancer/types/tab/overview.

- 5 En algunas realizaciones, las nanopartículas comprenden, consisten en, consisten esencialmente en quercetina y un agente quimioterápico. En algunas realizaciones, las formulaciones de nanopartículas comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, una combinación de nanopartículas en donde una primera población de nanopartículas contiene quercetina y una segunda población de nanopartículas contiene un agente quimioterápico. En algunas 10 realizaciones, el agente quimioterápico es Temodar.
- 15 En algunas realizaciones, la formulación de nanopartículas comprende, consiste en o consiste esencialmente en, Temodar + quercetina en una nanopartícula, o una combinación de una primera población de nanopartículas que contienen Temodar y una segunda población de nanopartículas que contienen quercetina. Se cree que se espera que las nanopartículas mejoren la capacidad de un compuesto para cruzar la barrera hematoencefálica. Por ejemplo, en una formulación de nanopartículas que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, una combinación de Temodar + quercetina en una única nanopartícula o en dos poblaciones de nanopartículas separadas, se espera que las nanopartículas mejoren la capacidad de Temodar y quercetina para atravesar la barrera 20 hematoencefálica.
- 20 En algunas realizaciones, las nanopartículas pueden ser una o más nanoesferas, nanocilindros, nanoplacas, nanocapas, nanovarillas, nanoarroces, nanofibras, nanocables, nanopirámides, nanoprismas, nanoestrellas, nanosemilunas, nanoanillos y nanoantenas. En algunas realizaciones, las dimensiones de las nanopartículas pueden variar de aproximadamente 1 nm a aproximadamente 100 nm. En algunas realizaciones, las dimensiones de las 25 nanopartículas pueden variar de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 250 nm. En algunas realizaciones, las dimensiones de las nanopartículas pueden variar de aproximadamente 20 nm a aproximadamente 1000 nm. En algunas realizaciones, las dimensiones de las nanopartículas pueden variar de aproximadamente 4 nm a aproximadamente 6250 nm. En algunas realizaciones, las dimensiones de las nanopartículas son de 30 aproximadamente 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000, 1250, 2500, 3750, 5000, 7500, 10000 nm, o un valor dentro de un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, la cantidad de modulador y/o la cantidad de agente antineoplásico que se puede incorporar dentro de una nanopartícula depende del tamaño de la nanopartícula. Por lo tanto, cuanto mayor sea el tamaño de una nanopartícula, mayor será la cantidad de uno o más moduladores y/o agentes antineoplásicos 35 que se pueden incorporar dentro de la nanopartícula.
- 35 En algunas realizaciones, las nanopartículas comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, uno o más estabilizantes, que comprenden, consisten en, consisten esencialmente en, los componentes estructurales de la nanopartícula. Los ejemplos no limitantes de estabilizantes incluyen ácido desoxicólico, alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP) y polietilenglicol (PEG). Los estabilizantes y su uso en la producción de nanopartículas se 40 conocen bien por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, la caracterización fisicoquímica de las nanopartículas se conoce bien por un experto en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la heterogeneidad de tamaños (peso molecular) de las nanopartículas se puede medir determinando la dispersidad de las nanopartículas, que se puede expresar en términos del índice de polidispersidad (PDI, por sus siglas en inglés).
- 45 En algunas realizaciones, las nanopartículas se conjugan con una o más moléculas pequeñas (por ejemplo, ácido fólico). En algunas realizaciones, la una o más moléculas pequeñas permiten que las nanopartículas sean absorbidas específicamente por las células diana (por ejemplo, células de cáncer cerebral). Sin desear quedar ligado a ninguna teoría, la expresión mejorada del receptor de ácido fólico se encuentra comúnmente en las células neoplásicas. Por lo tanto, la conjugación de nanopartículas con ácido fólico puede mejorar selectivamente la absorción de las 50 nanopartículas por las células neoplásicas (por ejemplo, figura 32). Un experto en la técnica puede seleccionar un conjugado para modificar una nanopartícula en función del uno o más cánceres a los que se dirigirá. Por ejemplo, en alguna realización, se pueden usar dos o más conjugados para modificar una nanopartícula para dirigir específicamente la nanopartícula a más de un tipo de cáncer.
- 55 De acuerdo con la divulgación, se pueden combinar opciones de tratamiento adicionales con una o más combinaciones divulgadas en el presente documento. Por ejemplo, se puede proporcionar radioterapia y/o se puede realizar radiocirugía. Los ejemplos no limitantes incluyen radioterapia de cerebro completo, bisturí de rayos gamma y Cyberknife. Por lo tanto, por ejemplo, en algunas realizaciones, los sujetos con glioblastoma recidivante y/o refractario se pueden tratar con una combinación de nano-quercetina (por ejemplo, nanoesferas con quercetina) administrada 60 por vía intravenosa y Temodar administrado por vía oral junto con radioterapia con la técnica bisturí de rayos gamma Leading Edge®.

#### Realizaciones adicionales

- 65 En algunas realizaciones, las combinaciones en las composiciones, y las composiciones para los kits, usos y/o métodos descritos en el presente documento comprenden, consisten en, o consisten esencialmente en, quercetina +

Temodar, en donde la quercetina se administra por vía intravenosa, en donde la concentración de quercetina en una solución para administración intravenosa es de aproximadamente 5 mg/ml a aproximadamente 500 mg/ml, y en donde Temodar se administra por vía intravenosa, en donde el Temodar está en una solución para administración intravenosa.

- 5 En algunas realizaciones, las combinaciones en las composiciones, y las composiciones para los kits, usos y/o métodos descritos en el presente documento comprenden, consisten en, o consisten esencialmente en, quercetina + Temodar, en donde la quercetina se administra por vía intravenosa, en donde la dosis de quercetina en una solución para administración intravenosa es de aproximadamente 0,05 g a aproximadamente 10 g, y en donde Temodar se administra por vía intravenosa, en donde el Temodar está en una solución para administración intravenosa.
- 10 En algunas realizaciones, las combinaciones en las composiciones, y las composiciones para los kits, usos y/o métodos descritos en el presente documento comprenden, consisten en, o consisten esencialmente en, quercetina + Temodar, en donde la quercetina se administra por vía oral, en donde la cantidad de quercetina en una composición para administración oral es de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 50 g, y en donde Temodar se administra por vía oral, en donde el Temodar está en una composición para administración oral.
- 15 En algunas realizaciones, las combinaciones en las composiciones, y las composiciones para los kits, usos y/o métodos descritos en el presente documento comprenden, consisten en, o consisten esencialmente en, quercetina + Temodar, en donde la quercetina se administra en una formulación liposomal, en donde la dosis de quercetina para administración en una formulación liposomal es de aproximadamente 25 mg al día a aproximadamente 100 mg al día, y en donde Temodar se administra por vía intravenosa, en donde el Temodar está en una solución para administración intravenosa, o en donde el Temodar se administra por vía oral, en donde el Temodar está en una composición para administración oral.
- 20 25 Las formulaciones de composiciones y composiciones para los kits para el uso como se describe en el presente documento incluyen las combinaciones proporcionadas en la Tabla 0.3 a continuación.

Tabla 0.3 - Combinaciones para formulaciones de composiciones y composiciones para los kits.

Combinación	Temodar (Oral)	Temodar (IV)	Quercetina	SPB (para referencia)	EGCG (para referencia)
1.	X		IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 500 mg/ml	IV; de aprox. 0,05 g a aprox. 10 g	Oral; de aprox. 100 mg a aprox. 50 g
2.	X			X	Liposomal; de aprox. 25 mg al día a aprox. 100 mg al día
3.	X				IV; de aprox. 20 mg/ml a aprox. 2000 mg/ml
4.	X				Oral; de aprox. 0,5 g a aprox. 100 g
5.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
6.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
7.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
8.	X				Oral; de aprox. 0,01 g a aprox. 15 g
9.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
10.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
11.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
12.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
13.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
14.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
15.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
16.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
17.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
18.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
19.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
20.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
21.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
22.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
23.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
24.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
25.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
26.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
27.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
28.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
29.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
30.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
31.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
32.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
33.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml
34.	X				Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
35.	X				IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 100 mg/ml

(continuación)

Combinación	Temodar (Oral)	Temodar (IV)	Quercetina	SPB (para referencia)	EGCG (para referencia)
36.	X	X	IV: de aprox. 5 mg/mi a aprox. 500 mg/ml	IV: de aprox. 0,05 g a aprox. 10 g	Liposomat: de aprox. 25 mg al dia a aprox. 100 mg al dia
37.	X	X	X	X	IV: de aprox. 0,5 g a aprox. 100 g/ml
38.	X	X	X	X	IV: de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
39.	X	X	X	X	Oral: de aprox. 0,1 g a aprox. 3 g
40.	X	X	X	X	IV: de aprox. 0,01 g a aprox. 16 g
41.	X	X	X	X	X
42.	X	X	X	X	X
43.	X	X	X	X	X
44.	X	X	X	X	X
45.	X	X	X	X	X
46.	X	X	X	X	X
47.	X	X	X	X	X
48.	X	X	X	X	X
49.	X	X	X	X	X
50.	X	X	X	X	X
51.	X	X	X	X	X
52.	X	X	X	X	X
53.	X	X	X	X	X
54.	X	X	X	X	X
55.	X	X	X	X	X
56.	X	X	X	X	X
57.	X	X	X	X	X
58.	X	X	X	X	X
59.	X	X	X	X	X
60.	X	X	X	X	X
61.	X	X	X	X	X
62.	X	X	X	X	X
63.	X	X	X	X	X
64.	X	X	X	X	X
65.	X	X	X	X	X
66.	X	X	X	X	X
67.	X	X	X	X	X
68.	X	X	X	X	X
69.	X	X	X	X	X

(continuación)

Combinación	Tenodar (Oral)	Tenodar (IV)	Quercetina	SPB (para referencia)	EGCG (para referencia)
		IV; de aprox. 5 mg/ml a aprox. 500 mg/ml	Oral; de aprox. 100 mg a aprox. 50 g	IV; de aprox. 20 mg/ml a aprox. 2000 mg/ml	Oral; de aprox. 0,1 g a aprox. 50 g
70.	X		X	X	X
71.	X		X	X	X
72.	X		X		X
73.	X	X		X	X
74.	X	X		X	X
75.	X	X		X	X
76.	X	X		X	X
77.	X	X		X	X
78.	X	X		X	X
79.	X	X		X	X
80.	X	X		X	X

En la Tabla 0,3, "X" indica los componentes de las combinaciones para formulaciones de composiciones y composiciones para los kits, usos y/o métodos descritos en el presente documento. La dosificación intravenosa de Temodar puede ser, pero sin limitación, de 40 mg/kg a 50 mg/kg en dosis divididas durante un período de 2 a 5 días, o de 10 mg/kg a 15 mg/kg cada 7 a 10 días, o de 3 mg/kg a 5 mg/kg dos veces a la semana. La dosificación oral de

5 Temodar puede ser, pero sin limitación, de 1 mg por kg al día a 5 mg por kg al día, o de 1 mg/kg/día a 5 mg/kg/día, o de 2 mg/kg/día durante 8 a 12 semanas (dosis acumulativa máxima de 168 mg por kg). En algunas realizaciones, incluyendo las de la Tabla 0,3, en una combinación que comprende quer cetina y SPB, la relación de la concentración y/o la dosificación de quer cetina y SPB varía de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:30. En algunas 10 realizaciones, incluyendo las de la Tabla 0,3, en una combinación que comprende quer cetina y SPB, la relación de la concentración y/o la dosificación de quer cetina y SPB es de aproximadamente 1:10. En algunas realizaciones, incluyendo las de la Tabla 0,3, en una combinación que comprende quer cetina y SPB, la relación de la concentración y/o la dosificación de quer cetina y SPB es de aproximadamente 1:1.25, 1:1.5, 1:1.75, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:12, 1:14, 1:16, 1:18, 1:20, 1:22, 1:24, 1:26, 1:28, 1:30, 1:32, 1:34, 1:36, 1:38, 1:40, o una relación dentro de un intervalo 15 definido por dos cualesquiera de las relaciones mencionadas anteriormente.

15 En algunas realizaciones, incluyendo, pero sin limitación, las de la Tabla 0,3, la dosis de quer cetina varía de aproximadamente 0,5 g a aproximadamente 2 g. En algunas realizaciones, la dosis de quer cetina es de aproximadamente 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 o 10 g, o dentro de un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores mencionados anteriormente.

20 **Ejemplos**

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención. Las concentraciones y dosis de los agentes antineoplásicos y 25 moduladores divulgados en los siguientes Ejemplos no son limitantes. También se contemplan otras concentraciones, intervalos de concentraciones, dosis o intervalos de dosis aceptables.

**Ejemplo 1 - Síntesis y caracterización de nanopartículas**

30 Se sintetizaron y caracterizaron varias nanopartículas (NP). Se sintetizaron PLGA-PEG-NP, FA-PLGA-PEG-NP, DSPE-PEG-NP y FA-DSPE-PEG-NP que encapsulaban quer cetina. Las nanopartículas vacías correspondientes (sin encapsulación de quer cetina) se sintetizaron como controles. Durante el proceso de síntesis de nanopartículas, se ensayaron diversos parámetros, tales como diferentes tipos de estabilizantes, cantidad de estabilizante, cantidad de fármaco (quer cetina), etc.

35 Si bien PLGA-PEG y DSPE-PEG están disponibles comercialmente, el PLGA-PEG conjugado con ácido fólico se sintetizó usando la química de la carbodiimida. Las nanopartículas se caracterizaron usando dispersión de luz dinámica (DLS), espectrofotómetro UV-Vis. La figura 1-figura 7 muestran gráficos que muestran la distribución de tamaño de las diferentes nanopartículas.

40 **Ejemplo 2-Ejemplo 5**

Como se describe en el Ejemplo 2-Ejemplo 5, antes de elegir la nanoformulación para estudios *in vitro* y/o *in vivo*, se exploraron diferentes parámetros que determinan el tamaño, la cantidad de fármaco encapsulante (quer cetina), la estabilidad, etc. de las nanopartículas. Durante este proceso, se sintetizaron nanopartículas de diferentes tamaños, 45 por ejemplo, que varían de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 250 nm de diámetro. Se usaron diferentes tipos de estabilizantes como alcohol polivinílico (PVA) y ácido desoxicólico para explorar la síntesis de las nanoformulaciones.

50 **Ejemplo 2**

Se proporcionan datos relacionados con la síntesis de diferentes lotes de nanopartículas de vacío-PLGA-PEG usando alcohol polivinílico como estabilizante (figura 8; TABLA 2).

**TABLA 2**

Registro	Nombre de la muestra	Tamaño (diámetro prom. Z en nm)	PDI
3	PEG-PLGA-vacío-4222016-0013	150,9	0,69
4	PEG-PLGA-vacío-4222016-0014	133,3	0,073
5	PEG-PLGA-vacío-4222016-0015	220,2	0,152
6	PEG-PLGA-vacío-4222016-0016	135,8	0,076

55 **Ejemplo 3**

Se proporcionan datos relacionados con la síntesis de diferentes lotes de nanopartículas de Vacío-PLGA-PEG usando ácido desoxicólico como estabilizante. Se proporcionaron diversas cantidades de PLGA-PEG y ácido desoxicólico para sintetizar las nanopartículas (figura 9; TABLA 3). Se seleccionó el registro 8 para ensayarlo más a fondo en

estudios *in vitro/in vivo*.

TABLA 3

Registro	Nombre de la muestra	Tamaño (diámetro prom. Z en nm)	PDI
7	PEG-PLGA-vacio-4222016-201	123,5	0,039
8	PEG-PLGA-vacio-4222016-202	127,1	0,124
9	PEG-PLGA-vacio-4222016-203	120,2	0,088
10	PEG-PLGA-vacio-4222016-204	179,6	0,040
11	PEG-PLGA-vacio-4222016-205	184,9	0,059
12	PEG-PLGA-vacio-4222016-206	184,3	0,062

5 Ejemplo 4 - Exploración de la cantidad de quercetina en las nanoformulaciones

Se proporcionan datos relacionados con la síntesis y la exploración de diferentes lotes de nanopartículas de PLGA-PEG que encapsulan quercetina. Se usó ácido desoxicólico como estabilizante. Se usaron diferentes relaciones de quercetina:PLGA-PEG para explorar el proceso de síntesis de las nanopartículas (figura 10; TABLA 4). Se seleccionó el registro 33 para ensayarlo más a fondo en estudios *in vitro/in vivo*.

TABLA 4

Registro	Nombre de la muestra	Tamaño (diámetro prom. Z en nm)	PDI
32	PEG-PLGA-QC-4222016-0401	154,9	0,115
33	PEG-PLGA-QC-4222016-0402	132,5	0,093
34	PEG-PLGA-QC-4222016-0403	251,3	0,688
35	PEG-PLGA-QC-4222016-0404	130,1	0,092

15 Ejemplo 5 - Síntesis y caracterización de DSPE-PEG-NP

De manera similar al Ejemplo 4, el método para la síntesis de diferentes lotes de DSPE-PEG-NP se optimizó (figura 11; TABLA 5). Se seleccionó el registro 29 para ensayarlo más a fondo en estudios *in vitro/in vivo*.

TABLA 5

Registro	Nombre de la muestra	Tamaño (diámetro prom. Z en nm)	PDI
26	DSPE-PEG/PEG-PLGA-4222016-0501	150,0	0,115
27	DSPE-PEG/PEG-PLGA-4222016-0502	141,4	0,161
28	DSPE-PEG/PEG-PLGA-4222016-0503	152,2	0,171
29	DSPE-PEG/PEG-PLGA-4222016-0505	128,2	0,108

20 Ejemplo 6 - Imágenes confocales de las nanopartículas en células neoplásicas

Se sintetizaron partículas PLGA-PEG-NP, DSPE-PEG-NP, FA-PEG-NP y FA-DSPE-PEG-NP marcadas con un colorante (Cy5). Estas nanopartículas se usaron para examinar la absorción preferencial de las nanopartículas con o sin ácido fólico en una línea celular cancerosa que sobreexpresa el receptor de ácido fólico.

25 La figura 32 muestra datos de imágenes confocales que muestran la absorción de nanopartículas de PLGA-PEG que encapsulan quercetina en células neoplásicas que sobreexpresan el receptor de ácido fólico. La figura 32, en la parte superior izquierda, muestra una imagen confocal de la absorción de PLGA-PEG-QC-NP marcadas con el colorante Cy5 sin conjugación con ácido fólico, y la figura 32, en la parte inferior izquierda, muestra imágenes confocales y DIC superpuestas de la absorción de PLGA-PEG-QC-NP marcadas con el colorante Cy5 sin conjugación con ácido fólico. La figura 32, en la parte superior derecha, muestra una imagen confocal de la absorción de PLGA-PEG-QC-NP marcadas con el colorante Cy5 con conjugación con ácido fólico, y la figura 32, en la parte inferior derecha, muestra imágenes confocales y DIC superpuestas de la absorción de PLGA-PEG-QC-NP marcadas con el colorante Cy5 con conjugación con ácido fólico.

30 Se observó una absorción preferencial por parte de las células neoplásicas de nanopartículas de PLGA-PEG-QC conjugadas con ácido fólico (figura 32; parte superior a la derecha y parte inferior a la derecha) en comparación con las nanopartículas no conjugadas (es decir, no conjugadas con ácido fólico) (figura 32; parte superior y parte inferior a la izquierda).

35 Ejemplo 7 - Imágenes confocales de las nanopartículas en células OVACAR3

Se sintetizan partículas PLGA-PEG-NP, DSPE-PEG-NP, FA-PEG-NP y FA-DSPE-PEG-NP marcadas con un colorante (Cy5). Estas nanopartículas se usan para examinar la absorción preferencial de las nanopartículas con o sin ácido fólico en una línea celular de cáncer de ovario (OVACAR3) que sobreexpresa el receptor de ácido fólico.

- 5 Se recopilan datos de imágenes confocales de la absorción de PLGA-PEG-QC-NP marcadas con colorante Cy5 sin conjugación con ácido fólico. También se recopilan imágenes confocales y DIC superpuestas de la absorción de PLGA-PEG-QC-NP marcadas con colorante Cy5 sin conjugación con ácido fólico. Se recopilan datos de imágenes confocales de la absorción de PLGA-PEG-QC-NP marcadas con el colorante Cy5 con conjugación con ácido fólico. También se recopilan imágenes confocales y DIC superpuestas de la absorción de PLGA-PEG-QC-NP marcadas con colorante Cy5 con conjugación con ácido fólico.
- 10

Se observa una absorción preferencial por parte de las células neoplásicas de nanopartículas de PLGA-PEG-QC conjugadas con ácido fólico en comparación con nanopartículas no conjugadas (es decir, no conjugadas con ácido fólico).

15 Ejemplo 8 - Estudio de xenoinjerto usando una línea celular de cáncer resistente a la quimioterapia

Se realizaron experimentos de xenoinjerto usando una línea celular de cáncer resistente a la quimioterapia para determinar el efecto de las nanoformulaciones sobre la viabilidad del crecimiento del tumor (figura 33).

- 20 Se usó una línea celular de glioma (células U-87 MG) que es resistente a/muestra una respuesta subóptima a la temozolomida. Se usaron ratones atípicos (que carecen de timo) NCr homocigotos hembra inmunocomprometidos. Se usaron ratones de 5-6 semanas de edad, que pesaban aproximadamente 20 g para estos experimentos. A los ratones se les proporcionó acceso a voluntad a agua y comida. Se recogieron células U-87 MG cultivadas y se implantaron por vía subcutánea (s.c.) en ambos costados ( $5 \times 10^6$  células en volúmenes de 100  $\mu$ l que contenían el 50 % de Matrigel). Se permitió que los tumores crecieran durante 5 días (hasta un volumen inicial de 500-600  $\text{mm}^3$ ) antes de la administración de un tratamiento. Inmediatamente antes del inicio del tratamiento, 6 días después de la implantación, los animales se dividieron en grupos de control (PBS) y de tratamiento que contenían distribuciones similares de volúmenes tumorales (medición con calibradores). A los grupos de tratamiento se les administró 25 temozolomida (Temodar), nanoformulaciones con modulador (PLGA-PEG-QC-NP) o temozolomida + nanoformulaciones con modulador (temozolomida + PLGA-PEG-QC-NP). El volumen tumoral se midió (mediciones con calibradores) dos veces a la semana. Después del sacrificio humanitario de los animales a los 20 días (después de la inyección), se pesaron los tumores.
- 30

- 35 Los datos se muestran en la figura 33. La línea celular resistente a la quimioterapia continuó creciendo en la muestra de control a pesar de la presencia de quimioterapia. Sin embargo, se indujo una disminución en el volumen del xenoinjerto U87MG y el peso del tumor mediante la administración s.c. diaria durante 10 días de temozolomida, PLGA-PEG-QC-NP y temozolomida + PLGA-PEG-QC-NP.

- 40 Se realizaron experimentos similares con una línea celular de cáncer de ovario resistente a Doxil (doxorubicina). Los resultados obtenidos con la línea celular de cáncer de ovario fueron similares a los obtenidos con células U-87 MG.

Ejemplo 9 - Acumulación de las nanoformulaciones en el animal con tumor implantado

- 45 Se proporcionan datos relacionados con estudios sobre la acumulación de las nanoformulaciones en el animal con tumor implantado.

Animales - Se adquirieron ratones atípicos hembra inmunocomprometidos de 5-6 semanas de edad y con un peso entre 18 y 20 g en Taconic Biosciences (Albany, NY). Todos los estudios con animales se realizaron en las instalaciones para animales del Veteran Affairs Medical Center, Albany, NY de acuerdo con las directrices institucionales para el tratamiento humanitario de los animales y aprobadas por ellas, y de acuerdo con las directrices actuales. Los ratones se mantuvieron en condiciones carentes de patógenos específicas y se alojaron en condiciones controladas de temperatura (20-24 °C) y humedad (60-70 %) y en un ciclo de luz/oscuridad de 12 h con acceso a voluntad a agua y comida. Se permitió que los ratones se aclimataran durante 5 d antes del inicio del estudio.

55 Tratamiento - Se implantaron por vía subcutánea células neoplásicas OVCAR 3 ( $1 \times 10^6$ ) en el costado derecho de cada animal. En el primer conjunto de experimentos, a los ratones se les inyectaron por vía subcutánea todos los días (durante 14 días) control, quercetina libre (3 mg/kg), NP-quercetina (3 mg/kg) y FA-NP-quercetina (3 mg/kg). El control era PBS; después del sacrificio humanitario de los animales a los 14 días, se extrajeron los tumores y se midió la cantidad de QC.

60 La figura 12 muestra el efecto de la quercetina y la quercetina nanoformulada sobre el peso del tumor. Aunque la QC libre y NP-QC no tienen ningún efecto tóxico adverso sobre la salud de los ratones portadores de tumor, sin embargo, en el caso de FA-NP-QC se observó una mancha de color negro en el lugar de la inyección y en el tumor (después de 24 h de la inyección).

La figura 13 muestra el efecto de la quercetina y la quercetina nanoformulada sobre el peso del tumor. Debido a que la administración de FA-NP-QC dio como resultado una mancha de color negro en el lugar de la inyección y en el tumor (después de 24 h de la inyección), a los ratones se les administró una sola dosis de FA-QC-NP.

- 5 La figura 14 muestra los efectos secundarios de FA-NP-QC en ratones portadores de tumor. Aunque esta mancha de color negro se observó a las 24 horas de la inyección, sin embargo, no se observaron otros efectos tóxicos adversos (como pérdida de peso, cambio conductual).
- 10 La figura 15 muestra la curva estándar de quercetina (con y sin adición de QC en la sangre). Para la medición de los niveles de QC en sangre/plasma, tumor y otros órganos principales de los ratones tratados, se desarrolló un método de medición de QC. Este método se validó añadiendo una cantidad conocida de QC en sangre completa y extrayendo la QC usando una solución de acetonitrilo y metanol. Se desarrolló el método de extracción de sangre/plasma, tumor y otros órganos y se observó que el % de extracción de QC fue superior al 90 %. La figura 16 muestra la medición de la cantidad de quercetina en el tumor después de la finalización del estudio. La figura 17 muestra la medición de quercetina en el plasma sanguíneo después de 2 h de inyección (subcutánea).

Ejemplo 10 - Tratamiento de neoplasia resistente a Temodar con una combinación de Temodar y al menos un modulador

- 20 Se identifican uno o más pacientes que tienen uno o más cánceres seleccionados de astrocitomas, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico, glioblastomas, glioblastomas multiformes, meningioma, gliomas, ependimomas, oligodendroglomas y gliomas mixtos, tumores cerebrales, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC.
- 25 Al uno o más pacientes se les administra una formulación que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, Temodar únicamente. Temodar se administra en una dosis de aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup>.
- 30 El día de la siguiente administración y antes de la administración, se realiza una evaluación del resultado del tratamiento hasta ese momento y se compara con todas las evaluaciones anteriores.
- 35 La evaluación de los pacientes después de un período inicial de tratamiento en términos de parámetros tales como la progresión, el crecimiento y el tamaño del cáncer indica que los cánceres no han progresado, han disminuido su crecimiento, han dejado de crecer/progresar, se han reducido de tamaño y/o han desaparecido. Sin embargo, después del período de respuesta inicial, los pacientes muestran una disminución en la respuesta a Temodar. Los cánceres finalmente se vuelven resistentes a Temodar. Los cánceres vuelven a progresar y a crecer.
- 40 A continuación, a los pacientes se les administra una combinación que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, Temodar y al menos un modulador seleccionado de quercetina, SPB y EGCG como se divulga en el presente documento. Temodar se administra en una dosis de aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup>. El al menos un modulador se administra en una dosis como se divulga en el presente documento. Se realiza una evaluación periódica del resultado del tratamiento.
- 45 Despues de un período mínimo de tratamiento (por ejemplo, un día), el paciente muestra una mejoría. Las evaluaciones del cáncer en términos de parámetros tales como su progresión, crecimiento y/o tamaño, indican que el cáncer no ha progresado, ha disminuido su crecimiento, ha dejado de crecer/progresar, ha permanecido igual o se ha reducido de tamaño y/o ha desaparecido. Una evaluación adicional muestra que después de la terapia, los pacientes han mejorado en una o más medidas seleccionadas del grupo de: actividad de los linfocitos citolíticos naturales, aumento del recuento de leucocitos, disminución de la actividad de LDH, disminución de los marcadores tumorales, reducción del tumor en estudios radiográficos, disminución de la CRP (correlación con una mejor supervivencia), mejora de IgF-1. En algunos casos, los pacientes no muestran una disminución en la respuesta a la combinación que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, Temodar más al menos un modulador seleccionado de quercetina, SPB y EGCG como se divulga en el presente documento durante el transcurso del tratamiento, y los cánceres finalmente se eliminan sin recidiva.

Ejemplo 11 - Tratamiento de neoplasia con Temodar y al menos un modulador

- 60 Se identifican uno o más pacientes que tienen uno o más cánceres seleccionados de astrocitomas, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico, glioblastomas, glioblastomas multiformes, meningioma, gliomas, ependimomas, oligodendroglomas y gliomas mixtos, tumores cerebrales, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC.
- 65 A continuación, a los pacientes se les administra una combinación de Temodar y al menos un modulador seleccionado de quercetina, SPB y EGCG como se divulga en el presente documento. Temodar se administra en una dosis de

aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup>. El al menos un modulador se administra en una dosis como se divulga en el presente documento. Se realiza una evaluación periódica del resultado del tratamiento.

5      Despues de un período mínimo de tratamiento (por ejemplo, un día) a una dosis mínima requerida para prevenir y/o tratar la neoplasia, el paciente muestra una mejoría. Las evaluaciones del cáncer en términos de parámetros tales como su progresión, crecimiento y/o tamaño, indican que el cáncer no ha progresado, ha disminuido su crecimiento, ha dejado de crecer/progresar, ha permanecido igual o se ha reducido de tamaño y/o ha desaparecido. Una evaluación adicional muestra que después de la terapia, los pacientes han mejorado en una o más medidas seleccionadas del grupo de actividad de los linfocitos citolíticos naturales, aumento del recuento de leucocitos, disminución de la actividad de LDH, disminución de los marcadores tumorales, reducción del tumor en estudios radiográficos, disminución de la CRP (correlación con una mejor supervivencia), mejora de IgF-1. En algunos casos, los pacientes no muestran una disminución en la respuesta a la combinación de Temodar más al menos un modulador seleccionado de quercetina, SPB y EGCG como se divulga en el presente documento durante el transcurso del tratamiento, y los cánceres finalmente se eliminan sin recidiva.

15     Ejemplo 12 - Tratamiento de neoplasia resistente a Temodar con una combinación de Temodar y al menos un modulador en una nanopartícula

20     Se identifican uno o más pacientes que tienen uno o más tipos de cánceres cerebrales seleccionados de astrocitomas, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico, glioblastomas, glioblastomas multiformes, meningioma, gliomas, ependimomas, oligodendrogiomas y gliomas mixtos, tumores cerebrales, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC.

25     Al uno o más pacientes se les administra una formulación que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, Temodar únicamente. Temodar se administra en una dosis de aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup>.

30     El día de la siguiente administración y antes de la administración, se realiza una evaluación del resultado del tratamiento hasta ese momento y se compara con todas las evaluaciones anteriores.

35     La evaluación de los pacientes después de un período inicial de tratamiento en términos de parámetros tales como la progresión, el crecimiento y el tamaño del cáncer indica que los cánceres no han progresado, han disminuido su crecimiento, han dejado de crecer/progresar, se han reducido de tamaño y/o han desaparecido. Sin embargo, después del período de respuesta inicial, los pacientes muestran una disminución en la respuesta a Temodar. Los cánceres finalmente se vuelven resistentes a Temodar. Los cánceres vuelven a progresar y a crecer.

40     A continuación, a los pacientes se les administra una formulación de nanopartículas que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, una combinación de Temodar y nano-quercetina. Temodar se administra en una dosis de aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup>. La nano-quercetina se administra en una dosis de quercetina como se divulga en el presente documento. Se realiza una evaluación periódica del resultado del tratamiento.

45     Despues de un período mínimo de tratamiento (por ejemplo, un día), el paciente muestra una mejoría. Las evaluaciones del cáncer en términos de parámetros tales como su progresión, crecimiento y/o tamaño, indican que el cáncer no ha progresado, ha disminuido su crecimiento, ha dejado de crecer/progresar, ha permanecido igual o se ha reducido de tamaño y/o ha desaparecido. Una evaluación adicional muestra que después de la terapia, los pacientes han mejorado en una o más medidas seleccionadas del grupo de: actividad de los linfocitos citolíticos naturales, aumento del recuento de leucocitos, disminución de la actividad de LDH, disminución de los marcadores tumorales, reducción del tumor en estudios radiográficos, disminución de la CRP (correlación con una mejor supervivencia), mejora de IgF-1. En algunos casos, los pacientes no muestran una disminución en la respuesta a la combinación que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, Temodar más quercetina durante el transcurso del tratamiento, y los cánceres finalmente se eliminan sin recidiva.

55     Ejemplo 13 - Tratamiento de neoplasia con una nanoformulación de Temodar y al menos un modulador

60     Se identifican uno o más pacientes que tienen uno o más tipos de cáncer cerebral seleccionado de astrocitomas, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico, glioblastomas, glioblastomas multiformes, meningioma, gliomas, ependimomas, oligodendrogiomas y gliomas mixtos, tumores cerebrales, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC.

65     A continuación, a los pacientes se les administra una formulación de nanopartículas que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, una combinación de Temodar y quercetina, en la que al menos uno o ambos están presentes como nanopartículas. Temodar se administra en una dosis de aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup>. La quercetina se administra en una dosis como la divulgada en el presente documento.

Se realiza una evaluación periódica del resultado del tratamiento.

Después de un período mínimo de tratamiento (por ejemplo, un día), el paciente muestra una mejoría. Las evaluaciones del cáncer en términos de parámetros tales como su progresión, crecimiento y/o tamaño, indican que el cáncer no ha progresado, ha disminuido su crecimiento, ha dejado de crecer/progresar, ha permanecido igual o se ha reducido de tamaño y/o ha desaparecido. Una evaluación adicional muestra que después de la terapia, los pacientes han mejorado en una o más medidas seleccionadas del grupo de: actividad de los linfocitos citolíticos naturales, aumento del recuento de leucocitos, disminución de la actividad de LDH, disminución de los marcadores tumorales, reducción del tumor en estudios radiográficos, disminución de la CRP (correlación con una mejor supervivencia), mejora de IgF-1. En algunos casos, los pacientes no muestran una disminución en la respuesta a la combinación de Temodar más quercetina durante el transcurso del tratamiento, y los cánceres finalmente se eliminan sin recidiva.

Ejemplo 14 - Tratamiento de neoplasia con una nanoformulación de Temodar y al menos un modulador

Se identifican uno o más pacientes que tienen uno o más tipos de cáncer cerebral seleccionado de astrocitomas, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico, glioblastomas, glioblastomas multiformes, meningioma, gliomas, ependimomas, oligodendrogliomas y gliomas mixtos, tumores cerebrales, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC.

A continuación, a los pacientes se les administra una formulación de nanopartículas que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, una combinación de Temodar y quercetina, en la que ambos de los cuales están presentes como nanopartículas. Temodar se administra en una dosis de aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 1000 mg/m<sup>2</sup>. La quercetina se administra en una dosis como la divulgada en el presente documento.

Se realiza una evaluación periódica del resultado del tratamiento.

Después de un período mínimo de tratamiento (por ejemplo, un día) a una dosis mínima requerida para prevenir y/o tratar la neoplasia, el paciente muestra una mejoría. Las evaluaciones del cáncer en términos de parámetros tales como su progresión, crecimiento y/o tamaño, indican que el cáncer no ha progresado, ha disminuido su crecimiento, ha dejado de crecer/progresar, ha permanecido igual o se ha reducido de tamaño y/o ha desaparecido. Una evaluación adicional muestra que después de la terapia, los pacientes han mejorado en una o más medidas seleccionadas del grupo de actividad de los linfocitos citolíticos naturales, aumento del recuento de leucocitos, disminución de la actividad de LDH, disminución de los marcadores tumorales, reducción del tumor en estudios radiográficos, disminución de la CRP (correlación con una mejor supervivencia), mejora de IgF-1. En algunos casos, los pacientes no muestran una disminución en la respuesta a la combinación de Temodar más quercetina durante el transcurso del tratamiento, y los cánceres finalmente se eliminan sin recidiva.

Ejemplo 15 - Caso práctico - Lisa - Tratamiento de melanoma metastásico con quercetina PG-SPB y quercetina PG-Temodar

Una paciente de 61 años acudió a la clínica del Dr. Nezami para la evaluación y el tratamiento de melanoma metastásico y refractario. Se le había diagnosticado por primera vez 11 años antes, comenzando como un lunar en su abdomen derecho al que se le realizó una biopsia y se demostró que era un melanoma de propagación superficial. La patología mostró que el tumor tenía una tasa mitótica baja y no tenía satélites. Se negó a recibir terapias inmunitarias convencionales, incluyendo interleucina 2 (IL-2) y otras terapias convencionales. Nueve meses antes acudir a la clínica del Dr. Nezami, sintió una masa debajo de su brazo derecho que le dolía. Inicialmente se trató como un absceso. Le habían administrado antibióticos durante ocho semanas con reacciones graves. Sin embargo, el bulto nunca se resolvió. Una biopsia del bulto y un ganglio linfático 8 semanas después reveló un melanoma metastásico. Un mes después, fue tratada con una terapia de primera línea aprobada de inhibidor de PD-1, nivolumab (6 inyecciones), junto con otras terapias alternativas/apoyo nutricional.

Una TC cuatro meses después mostró progresión de la enfermedad. En este momento, fue tratada con fármacos combinados Nivolumab e Ipilimumab (Optivo y Yervoy) en función de su patología positiva para PDL-1. Tuvo una reacción adversa grave a los medicamentos con fiebre, tormenta tiroidea, desequilibrio electrolítico y otros problemas endocrinos. También había agotado otros fármacos extraoficiales sin éxito (incluyendo naltrexona, curcumina, vitamina C y otras terapias inmunitarias). Notificó que el tumor debajo de su axila había estado creciendo de manera constante, lo que le causaba dolor y malestar.

A su llegada a la clínica del Dr. Nezami, se estadificó su enfermedad con una PET de cuerpo entero. La exploración mostró una enfermedad progresiva (después de la terapia con Yervoy® y Opdivo®) con aumento de la actividad metabólica de la masa de la pared torácica y presencia de ganglios linfáticos cervicales, periportales y peripancreáticos. En ese momento, las opciones de atención eran convencionalmente limitadas ya que no había respondido a las terapias inmunitarias y tenía una toxicidad significativa.

Las pruebas de laboratorio también confirmaron un aumento del marcador de proteína B de unión a calcio S100 (S100B) (a 278), así como la presencia de células tumorales circulantes (CTC) con marcadores positivos. S100B es

una proteína de la familia de proteínas S-100 y es un marcador molecular de lesión cerebral traumática grave. Su perfil molecular de sus CTC mostró un MGMT negativo.

Al comienzo de su tratamiento, se realizó la detección molecular de células tumorales circulantes de la siguiente manera. Para obtener células tumorales circulantes de la sangre periférica de la paciente, se aislaron células grandes y grupos de células, así como células epiteliales. Una preparación de células mononucleares (MNC) sirvió como fracción celular de control. Se aisló ARNm de todas las fracciones. Posteriormente, se midió la expresión de genes tumorales relevantes mediante RT-PCR cuantitativa en tiempo real. Una preparación de células mononucleares (MNC) sirvió como fracción celular de control. La expresión del gen de la telomerasa puede aumentar en la mayoría de los tipos de tumores, pero no en el tejido normal. Una expresión aumentada del gen de la telomerasa puede ser indicativa de la presencia de células tumorales en la circulación. No se detectó sobreexpresión de telomerasa en las células aisladas. La sobreexpresión de C-MYC indica una proliferación aumentada de las células aisladas. Una tasa de proliferación aumentada es una característica típica de las células tumorales. La expresión del nivel de C-MYC no se elevó. C-KIT es un receptor del factor de crecimiento que puede sobreexpresarse en diferentes tipos de tumores. En más del 50 % de los melanomas en estadio temprano, se ha descrito la expresión de C-KIT. Se detectó una expresión elevada de C-KIT en las células aisladas. La tirosinasa y MART1 se expresan específicamente en la piel, como se observa en el cáncer de mama. La detección de la expresión de ARNm de tirosinasa o MART1 en sangre indicó células de melanoma circulantes. No se detectó la expresión de tirosinasa y MART1. Por lo tanto, en la fracción de células tumorales aisladas, la expresión de C-KIT estaba por encima del umbral ( $>2,0$ ) y la expresión de CK19 estaba por encima del umbral ( $>0$ ) en el intervalo muy alto ( $>10000$ ). Este hallazgo fue indicativo de la probable presencia de células tumorales circulantes en la muestra de sangre analizada.

Inmediatamente comenzó con terapias epigenéticas IV, consistentes en quercetina PG como pilar de la terapia, y fenil butirato de sodio (SPB), que recibió diariamente durante 4 semanas. Su calidad de vida mejoró y no experimentó ningún efecto secundario de la terapia. Sus pruebas de laboratorio se repitieron después de 2 semanas de iniciar la terapia y mostraron una disminución de S100B, así como una reducción de su CTC. Este marcador tumoral tiene valor pronóstico y se correlaciona con la supervivencia. Esta disminución se logró sin el uso de quimioterapia.

Dos meses después de presentarse en la clínica del Dr. Nezami, comenzó con Temodar, a una dosis del 60 por ciento (calculada en función de su área de superficie corporal) a  $300 \text{ mg/m}^2$  (1-5/28) días junto con terapias epigenéticas intravenosas consistentes en quercetina PG como pilar de la terapia.

Se sometió a una exploración PET de reestadificación después de completar dos ciclos de Temodar en dosis baja y terapias epigenéticas como se describe, que mostraron una respuesta metabólica positiva significativa a la terapia con una reducción de la actividad metabólica de la masa axilar (valores de absorción estandarizados (SUV)) de 17,7 a 5,5. Tanto sus ganglios paraaórticos como peripancreáticos tenían una actividad metabólica reducida y un tamaño estable. Todos los ganglios linfáticos cervicales también estaban estables. Su ADN circulante (% de ADN<sub>IC</sub> - El valor de la "carga de alteración somática" en la figura 18 se refiere al % máximo de ADN<sub>IC</sub> detectado en cada punto temporal) mejoró con el tratamiento, con una reducción de la fracción de alelo mutante (MAF, por sus siglas en inglés) de TP53, según lo medido después de 4 meses de iniciar el tratamiento. Su S100B disminuyó de 278 a 179 dos meses después del inicio del tratamiento.

Además, se le extirpó la masa axilar derecha mediante una cirugía citorreductora junto con 66 ganglios linfáticos axilares de nivel 3. Se le realizó una citorreducción de su masa axilar derecha de 12,5 cm y 66 ganglios linfáticos asociados 4 meses después del inicio del tratamiento con citología negativa en los 66 ganglios. La patología confirmó que todos los ganglios linfáticos estaban carentes de cáncer sin ninguna evidencia de melanoma. Aproximadamente 3 semanas después de iniciar el tratamiento en la clínica del Dr. Nezami, el nivel de expresión del marcador tumoral molecular C-KIT había disminuido significativamente de 8,28 a 3,48. Todos los demás marcadores de detección todavía estaban en el intervalo normal. Los valores medidos de los marcadores de detección sugirieron una disminución de la carga de células tumorales en la sangre. Su exploración PET de reestadificación 7 meses después del inicio del tratamiento mostró una resolución completa de todas las lesiones metastásicas en su abdomen y pelvis, así como en los ganglios cervicales. No se observó ningún signo de cáncer residual.

Ella continúa recibiendo tratamiento en la clínica del Dr. Nezami con mejor calidad de vida.

En resumen, la aplicación de la terapia combinada divulgada que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, Temodar y quercetina PG produjo resultados inesperados y mostró una eficacia significativa en el tratamiento del melanoma metastásico. Por lo tanto, esta terapia combinada es una opción factible y clínicamente relevante para el tratamiento del melanoma metastásico. Se cree que dicha terapia podría reemplazar el tratamiento de referencia actual del melanoma metastásico.

#### Ejemplo 16 - Caso práctico - Marcia - Tratamiento de glioblastoma con quercetina PG-Temodar

Este es un caso práctico de una paciente de 70 años con antecedentes de glioblastoma. Aproximadamente una semana después de ser diagnosticada, se sometió a una craneotomía estereotáctica del lóbulo frontal guiada por RM y a un tratamiento adicional con radioterapia de vanguardia con bisturí de rayos gamma. El tratamiento con Temodar

se inició inmediatamente después del diagnóstico y se detuvo 3 meses después según el protocolo estándar. Había recibido 35 sesiones de radiación y bisturí de rayos gamma en el Hospital Hoag y su neurocirujano la remitió a la clínica del Dr. Nezami para evaluación y tratamientos.

5 Al llegar a la clínica del Dr. Nezami tenía el pie caído/pie izquierdo pesado y no podía caminar. Sus otros síntomas neurológicos se habían recuperado después de la craneotomía, incluyendo la descoordinación de la mano izquierda. También tenía antecedentes de trombosis venosa profunda que fue tratada con Eliquis en la época de su derivación a la clínica del Dr. Nezami.

10 A su llegada, se realizaron pruebas de laboratorio que mostraron un aumento del ADN circulante (% de ADN<sub>IC</sub>) detectado con un 1,5 por ciento de fracción de alelo mutante (MAF) y dos alteraciones, neurofibromatosis 1 (NF-1) y NTRK3. También tenía niveles altos de LDH.

15 Comenzó con terapias epigenéticas IV descritas en esta solicitud que consistían en quercetina PG intravenosa como pilar de la terapia, junto con Temodar como tratamiento de referencia. Recibió terapias epigenéticas diariamente, durante diez tratamientos en un período de dos semanas. Posteriormente, fue evaluada de nuevo y las pruebas de laboratorio confirmaron la desaparición de NF-1 después de la terapia.

20 Se repitió su RM cerebral aproximadamente 3 meses después del inicio del tratamiento que no mostró ningún signo de progresión tumoral/recidiva tumoral. Su RM se repitió de nuevo aproximadamente 2 semanas después, la cual mostró una mejoría: El cuerpo caloso ya no estaba afectado. En este momento, la paciente ya había recibido 17 tratamientos.

25 Sus análisis de laboratorio indicaron una respuesta a las terapias, evidente por la disminución de su LDH de 477 a 180, medida aproximadamente 3 meses y 4 meses después del inicio del tratamiento, respectivamente.

30 Al comienzo de su tratamiento, se realizó la detección molecular de células tumorales circulantes de la siguiente manera. Para obtener células tumorales circulantes de la sangre periférica de la paciente, se aislaron células grandes y grupos de células, así como células epiteliales. Una preparación de células mononucleares (MNC) sirvió como fracción celular de control. Se aisló ARNm de todas las fracciones. Posteriormente, se midió la expresión de genes tumorales relevantes mediante RT-PCR cuantitativa en tiempo real. Una preparación de células mononucleares (MNC) sirvió como fracción celular de control. La expresión del gen de la telomerasa puede aumentar en la mayoría de los tipos de tumores, pero no en el tejido normal. Una expresión aumentada del gen de la telomerasa puede ser indicativa de la presencia de células tumorales en la circulación. No se detectó expresión de telomerasa en las células aisladas.

35 35 La expresión anómala del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) se puede detectar en muchos tipos diferentes de cáncer. Por lo tanto, la expresión anómala de EGFR es indicativa de la presencia de células tumorales circulantes. No se detectó la expresión de EGFR. La sobreexpresión de ERBB2 (HER-2/NEU) es un rasgo de diferentes tipos de cáncer y también puede observarse en el cáncer de mama. Por lo tanto, la detección de la sobreexpresión de ERBB2 puede ser indicativa de la presencia de células tumorales circulantes. La expresión de ERBB2 fue ligeramente elevada. C-KIT es un receptor del factor de crecimiento que puede sobreexpresarse en diferentes tipos de tumores. En más del 50 % de los melanomas en estadio temprano, se ha descrito la expresión de C-KIT. No se detectó la expresión de C-KIT en las células aisladas. Por lo tanto, en la fracción de células tumorales aisladas, la expresión de ERBB2 fue superior al umbral (>2,0). Este hallazgo fue indicativo de la probable presencia de células tumorales circulantes en la muestra de sangre analizada.

40 45 Sus células tumorales circulantes (CTC) fueron positivas para ERBB2, comprobadas antes de la terapia (a 6,85). Sin embargo, su análisis de CTC 6 semanas después del tratamiento mostró que el nivel de expresión del marcador molecular tumoral ERBB2 había disminuido significativamente, pero todavía estaba por encima del umbral (a 2,67).

50 55 Este fue un signo muy importante de respuesta, ya que los estudios han demostrado que las células tumorales circulantes/CTC se correlacionan con la progresión tumoral y la respuesta más allá de los hallazgos en imágenes. Por ejemplo, "Las CTC son superiores a la RM en la monitorización de la respuesta al tratamiento en el glioblastoma". Véase, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5342081/>. Su RM se repitió un mes después, lo cual mostró hallazgos estables, sin signos de recidiva, sin cambios en los realces periventriculares satélites después de la cirugía. No se identificó ninguna lesión nueva.

60 La paciente ha continuado su tratamiento en la clínica del Dr. Nezami, sin signos de recidiva y/o progresión tumoral durante más de 8 meses. Su requerimiento de esteroides para el edema cerebral es cero. Su calidad de vida está en el mejor nivel (ECOG de 1).

65 En resumen, la aplicación de la terapia combinada divulgada que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, Temodar y quercetina PG mostró una eficacia significativa en el tratamiento del glioblastoma. Por lo tanto, esta terapia combinada es una opción factible y clínicamente relevante para el tratamiento del glioblastoma. Se cree que dicha terapia podría reemplazar el tratamiento de referencia actual del glioblastoma.

Ejemplo 17 - Caso práctico - María - Tratamiento de cáncer cerebral con quercetina PG-Temodar

Este estudio está relacionado con una paciente de 57 años con antecedentes de carcinoma ductal inflamatorio de mama, estado ER+, PR-, Her-2 +++ posterior a quimioterapia neoadyuvante (Taxotere, herceptina) administrada 2 meses después del diagnóstico y mastectomía 3 meses después del diagnóstico. La paciente recibió quimioterapia

5 adyuvante durante dos meses después de la mastectomía, cambió a letrozol diario y herceptina cada tres semanas, estado posrecidiva 1 mes después, con metástasis cerebral, y recibió radioterapia que comenzó 1 mes después durante 9 meses (la última con Cyberknife). La paciente progresó aún más con metástasis pulmonar y recidiva de la pared torácica, como se determinó 3 meses después de la última radioterapia a pesar de usar varias líneas de 10 quimioterapias, incluida la combinación de tykerb y Xeloda, así como Kadcyla (TDM-1) que se administró durante el penúltimo mes de radioterapia. También recibió Doxil y dexametasona para su metástasis cerebral avanzada y no podía caminar de forma independiente. A continuación, la paciente viajó desde Italia para evaluación y terapia en la clínica del Dr. Nezami.

15 La evaluación inicial reveló marcadores tumorales elevados (CEA a 50, CA 15-3 a 362, LDH a 840, IL-8 a 43,5), así como un nivel sérico de Her-2 a 849. Se la volvió a estandarizar con una PET/CT, que mostró lesiones significativamente 20 ávidas de FDG en la pared torácica derecha, todos los ganglios linfáticos torácicos, hiliares y mediastínicos, así como en los ganglios axilares izquierdos con actividad SUV de 12, el cuello, subclaviculares y un gran derrame pleural derecho. Densidades extensas en el pulmón derecho, con pulmón medio derecho con una actividad asociada muy alta de 18F-fluorodesoxiglucosa (FDG) (SUV de más de 8). También hubo una mayor absorción en el cerebelo derecho con una masa izquierda con fotopenia central, sugestiva de malignidad (tumor metabólico activo), que ocupaba el cerebelo izquierdo en el cerebro.

25 Inmediatamente se le iniciaron terapias epigenéticas IV consistentes en querctina PG intravenosa como pilar de la terapia y una combinación de terapias convencionales, en este caso, Temodar, que recibió diariamente durante cinco días al mes. Sus análisis de laboratorio se repitieron cuatro días después y se obtuvieron los siguientes resultados: Su CA 15-3 disminuyó de 362 a 271,6 y a continuación a 251 y 208 aproximadamente tres semanas después de comenzar el tratamiento (el 17/7/15). Su LDH disminuyó de 840 a 430 y a continuación a 393. Su CEA disminuyó de 50 a 47 y a continuación a 42. CA 27,29 disminuyó de 392 a 300. Su Her-2 sérico disminuyó de 840 a 659. La puntuación ECOG mejoró de 3 a 1. Ahora podía caminar de forma independiente después de dos semanas de terapia.

30 30 Un mapa de respuesta tumoral Guardant360 (figura 18) ilustra los cambios relativos observados en el ADN libre de células (ADNlc) en diferentes puntos temporales de presentación de la muestra. El valor de la "carga de alteración somática" (por ejemplo, en la figura 18) se refiere al % máximo de ADNlc detectado en cada punto temporal. Las amplificaciones no se representan gráficamente, y solo se representan gráficamente la primera y la última de las cuatro fechas de prueba. El porcentaje, o frecuencia de alelo, del % de ADNlc alterado que circula en la sangre está relacionado con la biología tumoral única de cada paciente (por ejemplo, en la figura 19). Los factores que pueden afectar al % de ADNlc de alteraciones somáticas detectadas incluyen el crecimiento tumoral, la renovación, el tamaño, la heterogeneidad, la vascularización, la progresión de la enfermedad y el tratamiento. Los genes cubiertos por el mapa de respuesta tumoral Guardant360 se enumeran en la TABLA 6.

40

TABLA 6 - Genes detectados por el mapa de respuesta tumoral Guardant360

Mutaciones genes)	puntuaciones	(SNV)	(73	Secuenciación completa de CoveredExons				Amplicaciones (CNV) (18 genes)				Fusiones (6 genes)	
				Indels (23 genes)									
AKT1	ALK	APC	AR	ARAF	ARID1A	ATM	ATM	AR	BRAF	ALK			
BRAF	BRCA1	BRCA2	CCND1	CCND2	CCNE1	CDH1	ARID1A	BRCA1	CCND1	CCND2	FGFR2		
CDK4	CDKN2A	CTNNB1	DDR2	EGFR	ERBB2	BRCA2	CDH1	CCNE1	CDK4	CDK4	FGFR3		
ESR1	EZH2	FBXW7	FGFR1	FGFR2	FGFR3	GATA3	CDKN2A	EGFR	CDK6	EGFR	NRK1		
GNA11	GNAQ	GNAS	HNF1A	HRAS	IDH1	IDH2	ERBB2	GATA3	ERBB2	FGFR1	RET		
JAK2	JAK3	KIT	KRAS	MAP2K1	MAP2K2	MAPK1	KIT	MET	FGFR2	KIT	ROS1		
MAPK3	MET	MLH1	MPL	MTOR	MYC	NF1	MLH1	MTOR	KRAS	MET			
NFE2L2	NOTCH1	NPM1	NRAS	NTRK1	NTRK3	PDGFRA	NF1	PDGFRA	MYC	PDGFRA			
PTEN	PTPN11	RAF1	RBL	RET	RHEB	PTEN	RB1	PTK3CA	RAF1				
RHOA	RIT1	ROS1	SMAD4	SMO	STK11	TERT**	SMAD4	STK11					
TP53	TSC1	VHL			TP53	TSC1							

\*\*incluye la región VHL promotora de TERT

\*Exones seleccionados para maximizar la detección de mutaciones somáticas conocidas. Lista disponible bajo petición.

Los resultados del % de ADNlc detectado se clasifican de la siguiente manera: ND representa alteraciones genómicas no detectadas. Pueden estar presentes alteraciones genómicas que estén por debajo del límite de detección de esta prueba. Determinadas características de la muestra o variante pueden resultar en una sensibilidad analítica reducida, tal como una mala calidad de la muestra o una extracción inadecuada. Las alteraciones genómicas en un tumor pueden 5 estar presentes pero no se detectan en el ADN libre de células circulante de este espécimen de sangre con esta prueba. De manera similar a otras alteraciones en el ADNlc circulante, la cantidad (% de ADNlc) de esta variante puede reflejar la progresión de la enfermedad o la respuesta al tratamiento. Por lo tanto, se recomienda la correlación clínica. Dado que el número absoluto de copias en circulación depende tanto de la fracción tumoral como de la 10 magnitud de la amplificación tumoral, las amplificaciones se notifican en una escala semicuantitativa. Positivo (+) se refiere a que la magnitud de la amplificación está en el percentil 50 inferior de las muestras con amplificaciones; positivo fuerte (++) se refiere a que la magnitud de la amplificación está en el percentil 50 a 90; positivo muy fuerte (++) se refiere a que la magnitud de la amplificación está en el percentil 10 superior. Positivo (+) se refiere a que la 15 magnitud de la amplificación está en el percentil 50 inferior de las muestras con amplificaciones; positivo fuerte (++) se refiere a que la magnitud de la amplificación está en el percentil 50 a 90; positivo muy fuerte (++) se refiere a que la magnitud de la amplificación está en el percentil 10 superior.

Antes del inicio del tratamiento, se detectaron alteraciones somáticas en el ADN libre de células circulante aislado del espécimen de sangre de esta paciente. Estas alteraciones genómicas son variantes somáticas asociadas con el cáncer, algunas de las cuales se han asociado con una respuesta clínica aumentada o reducida a tratamientos 20 específicos. Se detectó amplificación en el ADN libre de células circulante aislado del espécimen de sangre de esta paciente para el uno o más genes anotados. A diferencia de las pruebas de amplificación de genes basadas en tejidos (por ejemplo, IHC o FISH), el mapa de respuesta tumoral Guardant360 evalúa la representación total de un gen determinado en todo el ADN libre de células circulante presente en la muestra de sangre de la paciente, incluido el material procedente del tumor y del tejido sano por igual. Como tal, el nivel absoluto de amplificación presente en la 25 sangre depende tanto del contenido de ADNlc procedente del tumor como del grado de amplificación dentro de esa fracción y no se puede inferir a partir de la interrogación del ADNlc en masa. Por ejemplo, una prueba de mapa de respuesta tumoral Guardant360 positiva podría representar una pequeña población de células con niveles extremadamente altos de la amplificación del gen detectado. Como alternativa, podría representar una gran población 30 de células con niveles bajos a medios de las amplificaciones del gen detectado. La correlación exacta entre la amplificación detectada por el mapa de respuesta tumoral Guardant360 en comparación con IHC o FISH y cómo cada prueba guía de manera diferente el tratamiento del paciente es un área de investigación activa.

El mapa de respuesta tumoral Guardant360 confirmó la presencia de ADN circulante que era positivo para la mutación 35 de los genes oncosupresores FBXW7, ERBB2 y P53 (figura 19).

35 Su ensayo de células tumorales circulantes (CTC) fue positivo a 4 CTC por 7,5 ml de sangre completa antes de la terapia. El ensayo de CTC se repitió aproximadamente una semana después de la terapia y no mostró CTC (figura 20). El punto de corte clínico para el ensayo de CTC es <5. 40 Su ADN circulante se repitió aproximadamente 3 semanas después de comenzar el tratamiento y mostró ERBB2 y P53 estables, y el "ADN circulante mutado de FBXW7" ya no era detectable en la sangre, lo que era un marcador indicativo de respuesta a la terapia. FBXW7 es un marcador importante de carcinogénesis y agresividad del cáncer de mama y modula C-MYC y Ki 67. 45 Se repitieron la RM cerebral y la exploración PET de cuerpo entero aproximadamente 6 semanas después de comenzar el tratamiento y mostraron una resolución parcial significativa de las zonas extensas previamente observadas de absorción ávida de FDG en la superficie de la piel de la pared torácica anterior, lateral y posterior derecha, una mejora moderada en los ganglios linfáticos mediastínicos, supraclaviculares y axilares metastásicos ávidos de FDG descritos previamente, quedando solo una enfermedad residual mínima. Se observó una resolución 50 casi completa de las anomalías del pulmón medio observadas previamente. La RM cerebral confirmó también la disminución de los hallazgos espectrográficos en el cerebro izquierdo.

A continuación, regresó a su ciudad natal en Italia. En resumen, la aplicación de la terapia combinada divulgada que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, Temodar y quercetina PG es factible y clínicamente relevante. Este estudio mostró una eficacia significativa en el tratamiento de una paciente con cáncer avanzado que previamente había fracasado con hasta 8 líneas de quimioterapia. Los resultados del presente documento son muy 55 alentadores y brindan un impulso para implementar tal enfoque en el cáncer avanzado.

60 Ejemplo 18 - Caso práctico - Rebecca - Tratamiento de cáncer de mama con quercetina PG-SPB y quercetina PG-Temodar

Una mujer de 41 años acudió a la clínica del Dr. Nezami a quien se le había diagnosticado un adenocarcinoma ductal 65 de mama izquierda metastásico y avanzado ER-/PR-/Her-2+ aproximadamente 5 años antes. También se encontró que tenía una mutación de la línea germinal BRCA 2. En ese momento se sometió a quimioterapia neoadyuvante estándar (régimen ACT). Además, se había sometido a una mastectomía.

- Cuatro años después del diagnóstico, la exploración PET reveló una recidiva de su enfermedad, con enfermedad ER-/PR-/Her-2+ (según el informe patológico de la masa pulmonar), y recibió tratamiento en el Comprehensive Blood and Cancer Center. La TC realizada 9 meses después (que fue su TC más reciente antes de la realizada en la clínica del Dr. Nezami) mostró progresión de la enfermedad con empeoramiento de la metástasis en los huesos (T7, T8, áreas lumbar y sacra), múltiples ganglios pulmonares y linfadenopatía en el tórax, derrames pleurales masivos bilaterales, hepatomegalia y metástasis hepática. La habían derivado a cuidados paliativos porque no había respondido a las terapias que había probado. Los registros de su oncólogo mostraban un deterioro de la función (ECOG de 1-2) y un empeoramiento de los análisis de laboratorio (LDH >1000, LFT elevadas, marcadores tumorales elevados). Su oncólogo había sugerido cuidados paliativos, que ella había rechazado.
- A su llegada a la clínica del Dr. Nezami, se la evaluó mediante biopsia líquida y perfil molecular de biopsia tisular
- La detección molecular de células tumorales circulantes se realizó de la siguiente manera. Para obtener células tumorales circulantes de la sangre periférica de la paciente, se aislaron células grandes y grupos de células, así como células epiteliales. Una preparación de células mononucleares (MNC) sirvió como fracción celular de control. Se aisló ARNm de todas las fracciones. Posteriormente, se midió la expresión de genes tumorales relevantes mediante RT-PCR cuantitativa en tiempo real. Una preparación de células mononucleares (MNC) sirvió como fracción celular de control.
- La expresión del gen de la telomerasa puede aumentar en la mayoría de los tipos de tumores, pero no en el tejido normal. Una expresión aumentada del gen de la telomerasa puede ser indicativa de la presencia de células tumorales en la circulación. Se detectó sobreexpresión de telomerasa en las células aisladas. La sobreexpresión de C-MYC indica una proliferación aumentada de las células aisladas. Una tasa de proliferación aumentada es una característica típica de las células tumorales. La expresión del nivel de C-MYC no se elevó. La sobreexpresión de ERBB2 (HER-2/NEU) es un rasgo de diferentes tipos de cáncer y también puede observarse en el cáncer de mama. Por lo tanto, la detección de la sobreexpresión de ERBB2 puede ser indicativa de la presencia de células tumorales circulantes. La expresión de ERBB2 fue elevada. La detección de la expresión de citoqueratina (CK) 19 indica la presencia de células epiteliales y, por lo tanto, puede ser indicativa de células tumorales circulantes. Se detectó la expresión de CK19. Por lo tanto, en la fracción de células tumorales aisladas, la expresión de ERBB2 y telomerasa estaba por encima del umbral (>2,0) y la expresión de CK19 estaba por encima del umbral ( $\geq 1$ ) en el intervalo superior (>1000). Este hallazgo fue indicativo de la probable presencia de células tumorales circulantes en la muestra de sangre analizada.
- También mostró un nivel sérico de Her-2 muy elevado en 9140 al comienzo del tratamiento (figura 21). También tenía marcadores tumorales muy altos (CA 15-3 estaba en 3162 (figura 22), y CA 27.29 estaba en 3585 (figura 23)). Además, su ADN circulante era positivo para mutaciones ERBB2, c-MYC y TP53, y su ensayo de CTC era positivo para ERBB2 y CK19.
- Inmediatamente comenzó con terapias epigenéticas IV, que consistían en quercetina PG IV como pilar de su terapia junto con SPB, diariamente 5 veces a la semana. Su calidad de vida mejoró rápidamente desde que comenzó los tratamientos. Su ECOG mejoró sustancialmente con mejor respiración y nivel de dolor. Pudo caminar de nuevo de forma independiente y su ictericia se resolvió.
- Sus pruebas de laboratorio se repitieron aproximadamente 3 semanas después, que mostraron marcadores tumorales mejorados, niveles de LDH y Her-2 sérico. Su CA 15-3 disminuyó de 3162 a 2832 (figura 22), su CA 27.29 disminuyó de 3585 a 3183 (figura 23). Su Her-2 sérico disminuyó de 9140 a 6573 medido aproximadamente 3 semanas después de comenzar el tratamiento (figura 21). Su LDH disminuyó de 1333 a 408 (figura 24). Su CTC también mostró una marcada reducción. Estos resultados se obtuvieron después de 13 tratamientos en el transcurso de aproximadamente 3 semanas.
- Posteriormente, su frecuencia de tratamiento se redujo a dos veces por semana con terapias dirigidas/epigenéticas. Sus pruebas de laboratorio se repitieron 2 semanas después y, después de solo cuatro tratamientos, mostró una marcada reducción en todos sus marcadores. Su CA 15-3 disminuyó de 2832 a 1852 (figura 22), su CA 27.29 disminuyó de 3183 a 2075 (figura 23).
- Se realizó una TC de reestadificación del tórax 2 semanas después y mostró una respuesta parcial a la terapia provisoria que consistió en una mejoría en todos los ganglios pulmonares, así como en los ganglios linfáticos del tórax. Se observó una reducción sustancial en el tamaño de todas las lesiones. La densidad en el lóbulo superior derecho posterior del pulmón disminuyó de tamaño de 41 x 16 mm a 27 x 8 mm, la densidad en el lóbulo superior izquierdo posterior disminuyó de tamaño de 18 x 10 mm a 10 x 4 mm, el ganglio en el lóbulo superior medial izquierdo disminuyó de 12 x 6 mm a 7 x 4 mm, el ganglio en la lesión perihiliar izquierda disminuyó de 19 x 14 mm a 11 x 10 mm, la lesión en el lóbulo inferior derecho posterior disminuyó de 20 x 17 mm a 15 x 12 mm, el ganglio paratraqueal superior izquierdo disminuyó de 7 a 3 mm, el ganglio perivasculares izquierdos disminuyó de 14 x 9 mm a mal definido, y un ganglio peritraqueal disminuyó de 13 x 10 mm a 10 x 8 mm.
- Sus marcadores tumorales disminuyeron aún más de nuevo medidos un día después de su TC de reestadificación. Su CA 15-3 disminuyó a 891 (figura 22), CA 27.29 disminuyó a 771 (figura 23), LDH disminuyó a 267 (figura 24) y su

Her-2 sérico disminuyó a 816.5 (figura 21).

- 5 Se realizó una exploración PET de reestadificación aproximadamente 7 semanas después, que mostró que todas sus lesiones pulmonares, hepáticas y esqueléticas respondieron a la terapia con actividad metabólica de fondo y redujeron su tamaño. Por ejemplo, su lesión del lóbulo hepático derecho disminuyó de 58 x 43 mm a 42 x 33 mm. Otra lesión que medía 24 x 19 mm disminuyó a 18 x 16 mm. La densidad nodular en el lóbulo superior izquierdo disminuyó de 10 x 4 mm a 8 x 5 mm. Su derrame pleural izquierdo disminuyó de tamaño. Había una masa necrótica en la mama derecha, y mostró una respuesta positiva a la terapia con un aumento de la esclerosis y la curación de todas las metástasis óseas esqueléticas.
- 10 Sus marcadores tumorales también continuaron disminuyendo. El Her-2 sérico disminuyó a 145 (figura 21) según lo medido 3 días después de su PET de reestadificación desde 816 según lo medido aproximadamente 7 semanas antes. Su CA 15-3 había disminuido a 259 desde 891 (figura 22), CA 27.29 había disminuido a 233 desde 771 (figura 23), y la LDH había disminuido a 159 desde 267 (figura 24).
- 15 Desafortunadamente, no pudo continuar con las terapias epigenéticas según lo programado debido a su residencia lejana y desarrolló metástasis cerebral aproximadamente 5 semanas después de su PET de reestadificación, con la metástasis más grande en el cerebelo de aproximadamente 20 mm de tamaño.
- 20 Comenzó con Temodar a razón de 200 mg diarios (1-5/28) junto con quercetina PG IV. Rechazó la radioterapia cerebral completa y se le consultó si deseaba bisturí de rayos gamma para su metástasis cerebral. Sin embargo, optó por no recibir ninguna opción de radioterapia. Se la trató además con dos ciclos de Temodar junto con terapias dirigidas.
- 25 Pruebas de laboratorio posteriores mostraron una reducción significativa de sus marcadores tumorales. Su calidad de vida mejoró y pudo caminar de nuevo de forma independiente. Ha superado su supervivencia esperada con las medidas de atención anteriores.
- 30 En resumen, la aplicación de la terapia combinada divulgada que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en, Temodar y quercetina PG es factible y clínicamente relevante y mostró una eficacia significativa en el tratamiento del adenocarcinoma de mama metastásico y avanzado.

Ejemplo 19 - Caso práctico - Shannon - Tratamiento de cáncer de mama con quercetina PG-SPB y quercetina PG-Temodar

- 35 Este caso práctico es de una paciente de 39 años con antecedentes de carcinoma ductal infiltrante bilateral moderadamente diferenciado en estadio cuatro con afectación angiolinfática, positivo para ER, negativo para PR, Her-2/Neu+3.
- 40 El diagnóstico reveló afectación de las glándulas suprarrenales, según se determinó mediante biopsias. Posteriormente, la paciente comenzó a tomar herceptina, carboplatino y Taxotere, de los cuales completó los seis ciclos, lo que resultó en una remisión completa.
- 45 Posteriormente, la paciente se sometió a una mastectomía y radioterapia seguida de herceptina para mantenimiento y bloqueo hormonal con tamoxifeno/fareston. En este punto, la paciente estaba en remisión completa, según se determinó mediante una exploración PET 7 meses después de completar 6 ciclos de tratamiento con herceptina, carboplatino y Taxotere.
- 50 Once meses después, la paciente desarrolló convulsiones y la RM del cerebro mostró cinco masas separadas que se realzaban en el cerebro. La más grande se resecó inmediatamente después de la detección y la paciente recibió radioterapia cerebral completa.
- 55 Cinco meses después, la paciente recayó con progresión de la enfermedad con metástasis ósea mientras estaba tomando Tykerb y Xeloda. En este punto, la paciente comenzó el tratamiento en el Cancer Treatment Centers of America y se le recetó Abraxane. La paciente probó una sesión de Arbaxane, desarrolló toxicidad neurológica y hematológica grave y optó por no recibir más quimioterapia. Continuó recibiendo herceptina y Xgeva, junto con Faslodex (bloqueo hormonal) con enfermedad progresiva. Es importante destacar que no había más opciones terapéuticas viables para ella.
- 60 Posteriormente, un año después de su recidiva, la paciente acudió a la clínica del Dr. Nezami como último recurso. Al su llegada, sus pruebas de laboratorio iniciales mostraron una supresión inmunitaria grave debido a la actividad suprimida de NK, marcadores tumorales significativamente elevados (figura 28 - figura 30) y VEGF (figura 25), y células tumorales circulantes superiores a 1000 por 7,5 ml de sangre según Verdirx (figura 26). Se observa que el límite máximo detectable para CTC es 1000. Se observa además que el umbral para una paciente con cáncer de mama metastásico es 5 y las posibilidades de supervivencia de un paciente son escasas si el número es superior a 5. En este caso, el nivel fue astronómicamente alto: 1000.

Inmediatamente comenzó a recibir en la clínica del Dr. Nezami tratamientos epigenéticos IV que consistían en quercetina PG, como pilar de la terapia y fenil butirato de sodio (SPB) administrado diariamente, cinco veces a la semana. Inmediatamente comenzó a sentirse mejor con más energía.

- 5 No experimentó ningún efecto secundario tóxico y sus pruebas de laboratorio se repitieron aproximadamente 2 semanas después. Su VEGF disminuyó de 150 al inicio del tratamiento a 75 aproximadamente 2 semanas después (figura 25), y su CTC disminuyó de 1000 a 724 (figura 26) en el mismo período de tiempo. Su LDH también disminuye de 755 a 581 en las primeras dos semanas después de comenzar el tratamiento, a 314 otras dos semanas después (figura 27), y se normalizó a 122 aproximadamente 5 semanas. Su CEA también disminuyó de 388 a 327. Su VEGF disminuyó de 150 a 75 en solo 14 días después de recibir 7 tratamientos (figura 25). Aproximadamente 2 semanas después, su CTC disminuyó de nuevo a 359 (después de 20 tratamientos), y su VEGF disminuyó de 150 a 24 (figura 25). Su calidad de vida y puntuación de desempeño ECOG mejoraron de 2 a cero (es decir, completamente activa).
- 10 15 Se repitió una exploración corporal completa y una RM cerebral, aproximadamente 2 meses después de comenzar el tratamiento, que no reveló lesiones en la RM (normal), y se resolvieron los hallazgos pulmonares en su exploración PET con solo lesiones óseas remanentes y enfermedad estable. Después de haber recibido 47 tratamientos, se repitió su CTC (aproximadamente un mes después de la exploración corporal completa y la RM cerebral), que mostró una disminución de 1000 a 56 (figura 26). Su VEGF se mantuvo normal en 112 (según lo medido aproximadamente 20 semanas después del ensayo de CTC repetido) incluso después de reducir gradualmente los tratamientos a una vez a la semana.

Sus tratamientos continuaron dos veces por semana y sus marcadores continuaron disminuyendo durante un período de 3 meses. Su CEA disminuyó de 926 cuando se repitió la exploración corporal completa y la RM cerebral (febrero de 2013) a 239 y luego a 194. Durante este tiempo, su LDH disminuyó de 504 a 241 y 183, y su CA 15-3 disminuyó de 684 a 311 y a continuación a 294, su CA 27.29 disminuyó de 881 a 290.5 según lo medido después de 1 mes, y 285 según lo medido después de 3 meses. Otro análisis realizado aproximadamente 2 semanas después mostró que los marcadores habían disminuido aún más: CEA había disminuido a 182, CA 15-3 a 232 y CA 27.29 a 258.

25 30 Su CTC se repitió después de aproximadamente 17 semanas de tratamiento y había disminuido de 1000 antes de iniciar el tratamiento a 5 después del tratamiento (figura 26). Después de 5 semanas más, un ensayo de CTC repetido mostró que el nivel había disminuido a solo 1 (figura 26), que a continuación disminuyó a cero.

35 40 Su tomografía PET se repitió para su reestadificación aproximadamente 1 semana después, que mostró actividades fisiológicas en el tórax y ninguna actividad metabólica en las lesiones metastásicas óseas conocidas observadas en exámenes anteriores. No se observó afectación de la médula ósea en comparación con los hallazgos previos de la RM de realce de la médula. Había estado en tratamiento dos veces a la semana durante aproximadamente 70 días en este punto; la frecuencia de los tratamientos estaba sujeta a la disponibilidad de la paciente para la administración del tratamiento.

45 50 Como estaba sufriendo dolor de cuello, aproximadamente 1 mes después su oncólogo la derivó por posible afectación espinal por el tumor. La patología de un disco herniado no mostró evidencia de malignidad.

55 60 Además, una exploración PET reveló un ganglio pulmonar y sospecha de linfangiomatosis. Por lo tanto, fue derivada para una broncoscopia y la patología fue negativa para malignidad en todas las muestras. Como tal, se encontró que no tenía enfermedad residual.

Aproximadamente 2 meses después, recibió una inyección de TDM-1. Sin embargo, sus marcadores tumorales no disminuyeron y experimentó una toxicidad significativa. De hecho, los marcadores aumentaron en comparación con los niveles de aproximadamente 1 mes atrás después de recibir el TDM-1. Su CA 15-3 aumentó de 695 a 1062, CA 27.29 aumentó de 763 a 1313 y su CEA aumentó de 669 a 972. Como resultado, decidió no recibir más quimioterapia.

65 70 Continuó recibiendo terapias epigenéticas IV quincenalmente en la clínica del Dr. Nezami. Aproximadamente 1 mes después, sus marcadores disminuyeron de nuevo: CEA disminuyó de 972 a 532 (figura 30), CA 15-3 disminuyó de 1067 a 631 (figura 28) y CA 27.29 disminuyó de 1313 a 674 (figura 29). No recibió bloqueo hormonal ni otras terapias (Xgeva, bifosfonatos) durante este tiempo.

75 80 Además, para un control óptimo de su enfermedad del SNC, recibió inyecciones mensuales de Doxil junto con terapias epigenéticas en combinación. Sus marcadores tumorales continuaron disminuyendo aún más a medida que continuó el tratamiento en la clínica del Dr. Nezami. En aproximadamente 4 semanas después de comenzar el tratamiento, su CEA disminuyó de 972 a 532 (figura 30), CA 15-3 disminuyó de 1067 a 511 (figura 28) y CA 27.29 disminuyó de 1313 a 541 (figura 29).

85 90 Su LDH había disminuido de 543 a 262 y Her-2 había disminuido de 225 a 108 (figura 31) (aproximadamente el 50 por ciento de reducción en menos de 3 semanas). Se realizó una nueva RM cerebral aproximadamente 3 meses después, que reveló una disminución general del tamaño de las lesiones metastásicas cerebrales tanto en el cerebelo como en

el parénquima, en comparación con la RM anterior de hace aproximadamente 2 meses. La lesión más grande en el sitio de la craneotomía suboccipital también se había reducido de tamaño.

5 Durante aproximadamente 6 meses había estado recibiendo Temodar en un programa diario (1-5/28) junto con terapias epigenéticas IV, con resultados extremadamente positivos. Su exploración PET en el momento de la nueva RM cerebral también confirmó una respuesta parcial y la reducción del tumor en todos los sitios metastásicos. Hubo una mejora significativa en el nivel de actividad de todas las lesiones en el cerebro, así como en los huesos (resolución/respuesta completa) y la tiroides, lesión del hueso ilíaco medio izquierdo, elemento posterior derecho de L4, lesión de la articulación S1, lesión de la glándula suprarrenal, masa observada previamente, actividad del ganglio periaórtico izquierdo, masa tiroidea, fisura pulmonar grande, derrames del espacio pleural, todos mostraron resolución completa, y el cerebelo izquierdo era menos intenso y más pequeño. Su SUV había disminuido de 14 a 9.

10 15 Además, todos sus marcadores habían disminuido: CA 15-3 disminuyó a 153,3 (figura 28), CA 27,29 a 182,1 (figura 29) y CEA a 59,1 (figura 30) según lo medido aproximadamente 1 mes después de su exploración PET. Su VEGF también continuó dentro del intervalo normal de aproximadamente 105 y los niveles de Her-2 habían disminuido de 225 a 35 en el transcurso de aproximadamente 5 meses (figura 31). Su CTC también se midió alrededor de este momento y había disminuido a cero en comparación con 1000 hace aproximadamente 14 meses.

20 En resumen, tal respuesta tan inesperada e impresionante en un paciente con cáncer avanzado después de varios intentos fallidos con una diversidad de terapias convencionales justifica una mayor investigación y puede afectar significativamente a los estándares actuales de atención en oncología.

Ejemplo 20 - Líneas celulares y mantenimiento, preparación de moduladores, ensayo MiCK® y análisis de datos

25 30 Los ejemplos de células incluyen AU-565 (carcinoma de mama), MCF-7 (adenocarcinoma de mama); MDA-MB-468 (adenocarcinoma de mama), NCI-H23 (adenocarcinoma de pulmón), NCI-H460 (carcinoma de pulmón no microcítico), NCI-H1299 (carcinoma de pulmón no microcítico), BxPC-3 (adenocarcinoma pancreático), MIA PaCa-2 (adenocarcinoma pancreático), Melme-3M (melanoma maligno), A-172 (glioblastoma), MES-SA (sarcoma uterino). Estas líneas celulares ya son resistentes a uno o más agentes antineoplásicos.

35 40 Las líneas celulares se cultivan y se mantienen en su medio de cultivo celular específico sin rojo fenol, complementado con FBS al 10 %, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomicina en aire humidificado con CO<sub>2</sub> al 5 % a 37 °C. Antes de su uso, se recogen células en crecimiento exponencial, se lavan con un medio calentado previamente y a continuación se suspenden de nuevo en un medio completo.

45 55 Se prepara una solución madre de querctina en DMSO al 20 % a una concentración de 500 µM y a continuación se diluye a 100 µM en el medio de cultivo. La concentración final de DMSO en el pocillo es del 1 % o menos. Se observa un ligero color amarillo, pero el color no se considera significativo en el ensayo. Se disuelve fenil butirato de sodio en RPMI a una concentración de 20 µM sin que se produzca un desarrollo de color que interfiera. Se disuelve galato de epigalocatequina-3 en RPMI a una concentración de 10 µg/ml.

55 60 El ensayo MicroCulture® Kinetic (MiCK®) se usa para detectar y cuantificar la muerte celular apoptótica en una población de células. Las células de interés se exponen al uno o más fármacos de interés en los pocillos de una placa espectrofotométrica de 384 pocillos con RPMI o DMEM como medio de soporte. Los cambios en la forma de las células se detectan mediante lecturas espectrofotométricas automatizadas que se registran automáticamente cada cinco minutos.

65 75 Las lecturas de densidad óptica (DO) obtenidas en el ensayo MiCK® se representan gráficamente en función del tiempo para obtener una curva. La pendiente de la curva obtenida se usa en una ecuación patentada para determinar la cantidad de apoptosis inducida. La unidad de medida es la unidad cinética (UC). Aunque la divulgación se refiere a pruebas que se realizan en los pocillos de una placa espectrofotométrica de 384 pocillos, un experto en la técnica reconocerá que numerosos sitios de prueba son adecuados para la prueba divulgada en el presente documento y, por lo tanto, una placa espectrofotométrica de 384 pocillos es una realización no limitante. Por ejemplo, se pueden usar placas espectrofotométricas de otros tamaños (placas de 6, 12, 24, 48, 96 pocillos), cubetas, tubos de ensayo o cualquier otra estructura adecuada conocida en la técnica.

Abreviaturas

60	NP Nanopartículas
	QC Querctina
	FITC Isotiocianato de fluoresceína
	PLGA poli(lactida-co-glicolído)
	PEG Polietilenglicol
	FA Ácido fólico
65	DSPE_PEG 1,2-Distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-amino (Polietilenglicol)
	DLS Dispersión de luz dinámica

ES 3 012 841 T3

NHS N-Hidroxisuccinimida

## REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para su uso en la profilaxis, el tratamiento o ambos de una neoplasia, en donde la composición farmacéutica comprende una formulación de nanopartículas que comprende quercetina y al menos un agente antineoplásico, en donde el al menos un agente antineoplásico es temozolomida (Temodar)
- 5 2. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición farmacéutica está formulada para administración IV o administración oral.
- 10 3. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:
  - a. la cantidad de quercetina es de 0,1 g a 2,5 g; y/o
  - b. la quercetina está en solución a una concentración de 10 mg/ml a 500 mg/ml.
- 15 4. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la cantidad de Temodar varía entre 20 mg y 5000 mg.
- 5 5. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:
  - c. el al menos un agente antineoplásico y la quercetina están en una única forma farmacéutica para administración conjunta;
  - d. el al menos un agente antineoplásico y la quercetina están en una única forma farmacéutica adecuada para administración IV;
  - 25 e. el al menos un agente antineoplásico y la quercetina están en una única forma farmacéutica adecuada para administración oral;
  - f. el agente antineoplásico y la quercetina están en formas farmacéuticas separadas;
  - g. el agente antineoplásico y la quercetina están cada uno en formas farmacéuticas adecuadas para administración IV;
  - 30 h. el agente antineoplásico y la quercetina están cada uno en formas farmacéuticas adecuadas para administración oral; o
  - i. el agente antineoplásico o la quercetina está en una forma farmacéutica adecuada para administración oral y el otro está en una forma farmacéutica para administración IV.
- 35 6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la neoplasia es uno o más de astrocitomas, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y gliomas del tronco encefálico, glioblastomas, glioblastomas multiformes, meningioma, gliomas, ependimomas, oligodendrogliomas y gliomas mixtos, tumores cerebrales, tumores de hipófisis, craneofaringiomas, tumores de células germinales, tumores de la región pineal, meduloblastomas y linfomas primarios del SNC.
- 40 7. Un kit para su uso en la profilaxis, el tratamiento o ambos de una neoplasia, en donde el kit comprende una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en donde cada uno del al menos un agente antineoplásico y la quercetina están contenidos en subrecipientes separados.
- 45 8. La composición farmacéutica o el kit para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para el tratamiento, la prevención o ambos de una neoplasia en un sujeto que lo necesite.
9. La composición farmacéutica o el kit para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde:
  - j. es probable que la neoplasia desarrolle resistencia, desarrolla resistencia y/o ya es resistente al menos a un agente antineoplásico; o
  - k. es probable que la neoplasia desarrolle resistencia, desarrolla resistencia y/o ya es resistente a la quercetina.
- 55 10. La composición farmacéutica o el kit para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición induce la apoptosis *in vitro* en al menos una línea celular cancerosa.
11. La composición farmacéutica o el kit para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde:
  - I. la inducción de la apoptosis por la composición es aditiva en comparación con la inducción de apoptosis de cada uno de los agentes antineoplásicos y la quercetina sola; o
  - m. la inducción de la apoptosis por la composición es sinérgica en comparación con la inducción de apoptosis de cada uno de los agentes antineoplásicos y la quercetina sola.
- 65 12. La composición farmacéutica o el kit para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde una dimensión de la nanopartícula en la formulación de nanopartículas varía de aproximadamente 100 nm

a aproximadamente 250 nm.

13. La composición farmacéutica o kit para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la nanopartícula se selecciona del grupo que consiste en PLGA-PEG-NP, FA-PLGA-PEG-NP, DSPE-PEG-NP y FA-DSPE-PEG-NP.

FIG. 1

**Resultados**

		Tamaño (d.nm):	% de intensidad:	Desv. est. (d.nm):
<b>Promedio Z (d.nm):</b>	127.1	Pico 1:	148.0	100.0
<b>Rsd:</b>	8.124	Pico 2:	0.000	0.000
<b>Intercepción:</b>	0.389	Pico 3:	0.000	0.000

Calidad del resultado: Buena

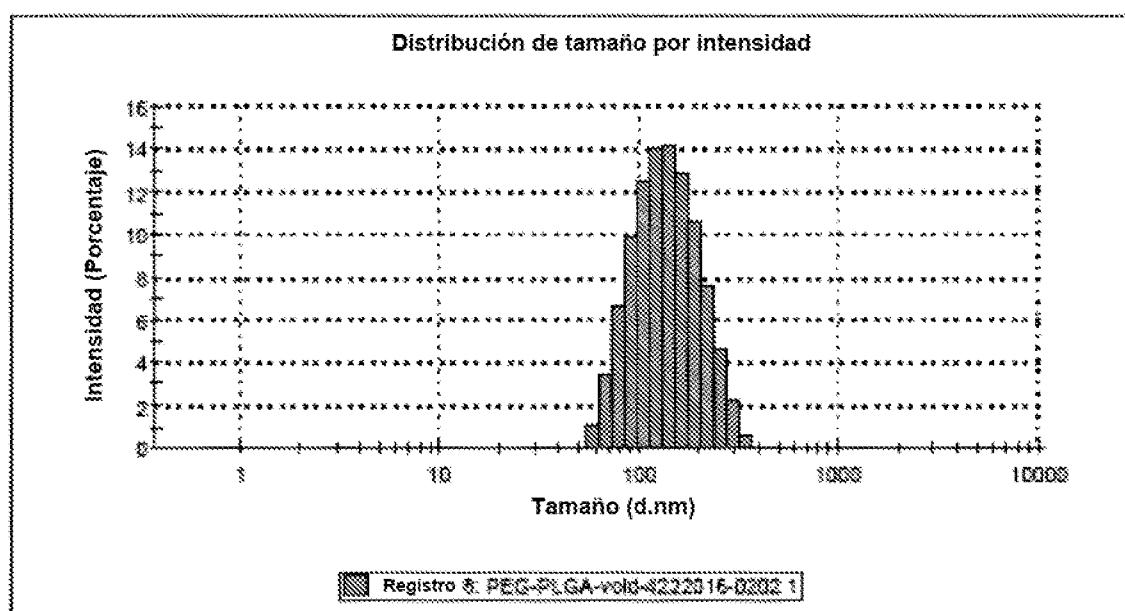


FIG. 2

**Resultados**

		Tamaño (d.nm):	% de intensidad:	Desv. est. (d.nm):
<b>Promedio Z (d.nm):</b>	188.7	Pico 1:	203.4	102.0
<b>P.M.:</b>	0.004	Pico 2:	0.000	0.0
<b>Intercepción:</b>	0.868	Pico 3:	0.000	0.0

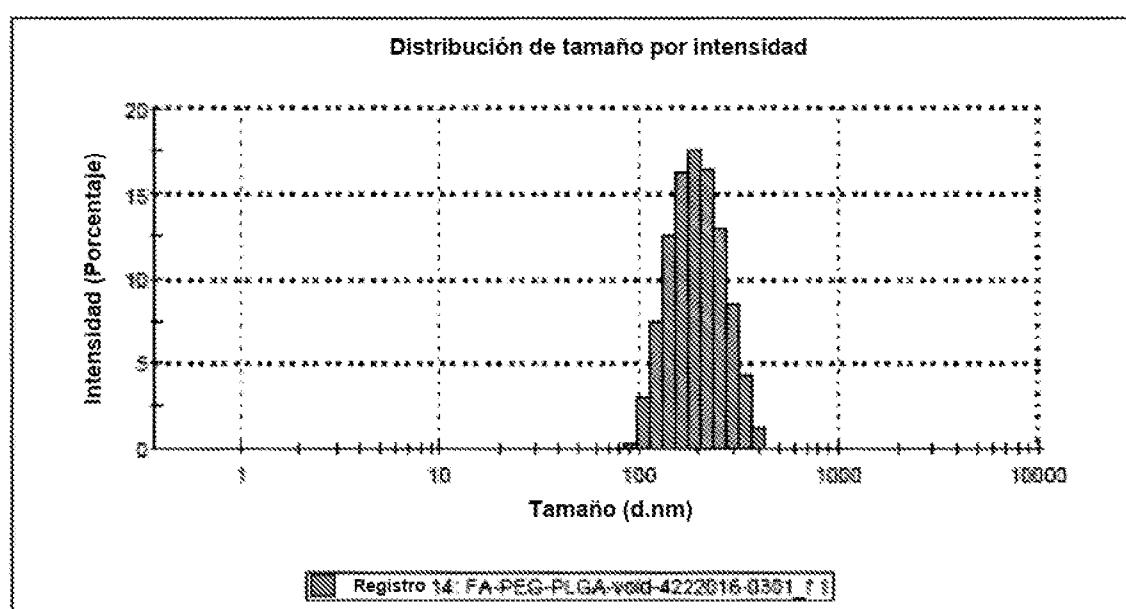
Calidad del resultado: **Buena**

FIG. 3

**Resultados**

	Tamaño (d.nm):	% de intensidad:	Desv. est. (d.nm):
<b>Promedio Z (d.nm):</b> 132.8	<b>Pico 1:</b> 147.1	100.0	48.34
<b>P.E.:</b> 0.0003	<b>Pico 2:</b> 0.000	0.0	0.0000
<b>Intercepción:</b> 0.871	<b>Pico 3:</b> 0.000	0.0	0.0000

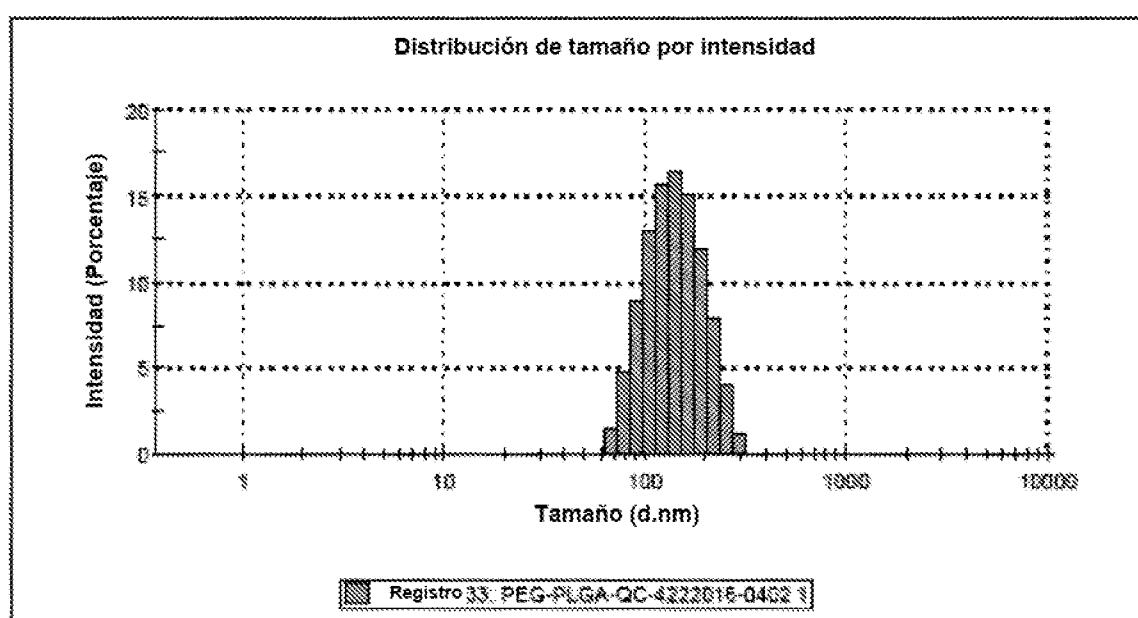
Calidad del resultado: **Buena**

FIG. 4

**Resultados**

		Tamaño (d.nm):	% de intensidad:	Desv. est. (d.nm)
<b>Promedio Z (d.nm):</b>	182.8	Pico 1:	183.8	100.0
<b>P<sub>Z</sub>:</b>	0.014	Pico 2:	0.000	0.000
<b>Intercepción:</b>	0.860	Pico 3:	0.000	0.000

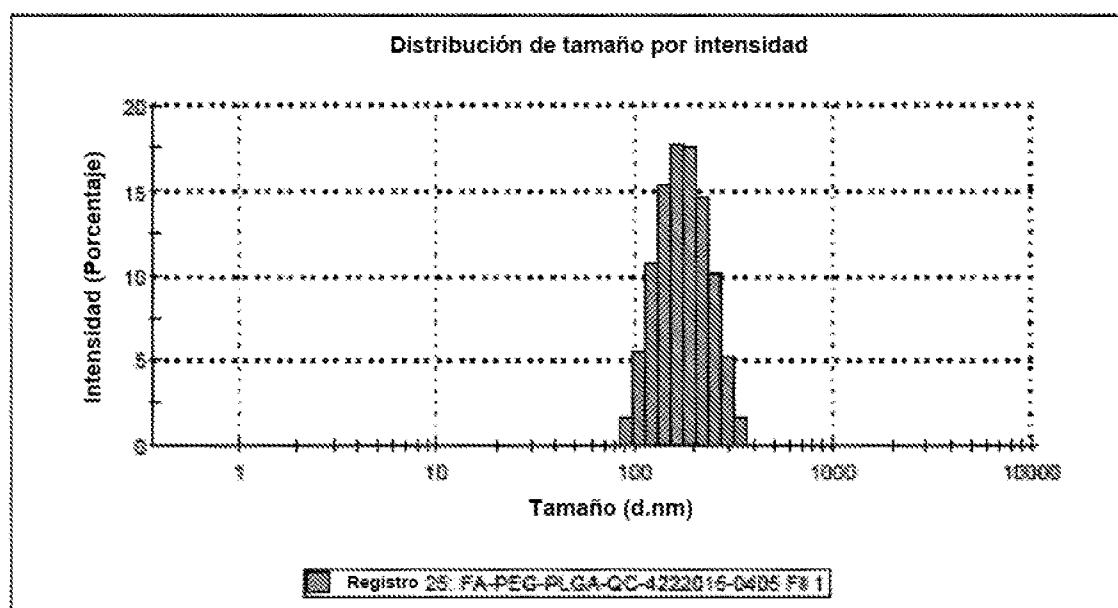
**Calidad del resultado: Buena**

FIG. 5

**Resultados**

		Tamaño (d.nm)	% de intensidad	Desv. est. (d.nm)
Promedio Z (d.nm):	181.4	Pico 1:	171.1	100.0
Rsd:	0.188	Pico 2:	0.000	0.0
Intercepción:	0.828	Pico 3:	0.000	0.0

Calidad del resultado: Buena

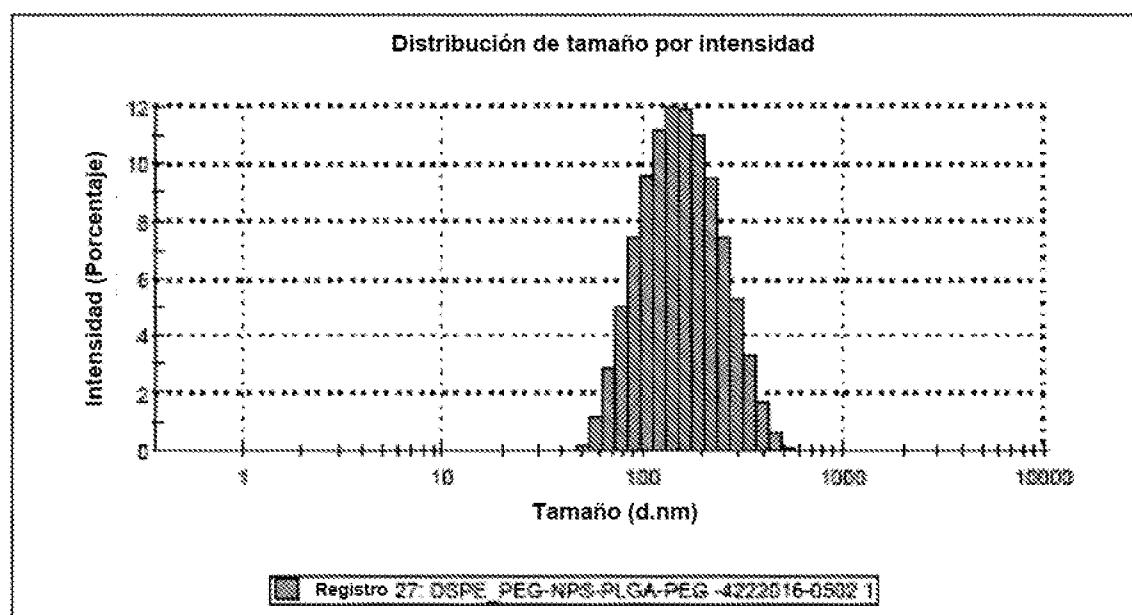


FIG. 6

**Resultados**

	Tamaño (d.nm):	% de intensidad:	Desv. est. (d.n...
Promedio Z (d.nm):	123.2	Pico 1:	135.7
± 0.100		Pico 2:	8.000
Intercepción:	0.945	Pico 3:	8.000

Calidad del resultado: Buena

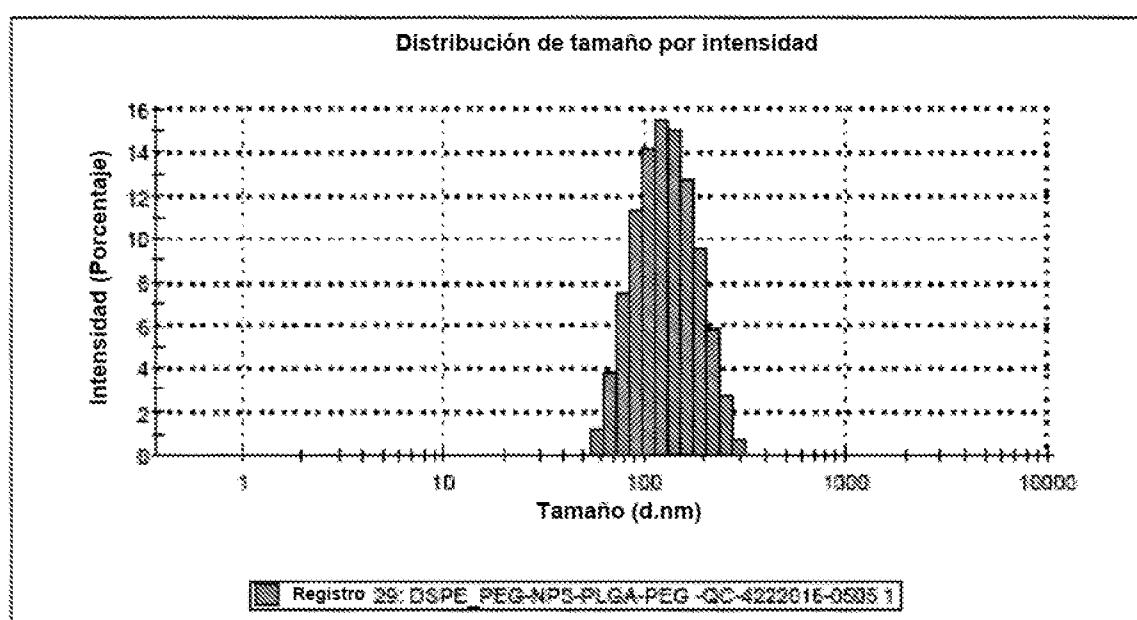
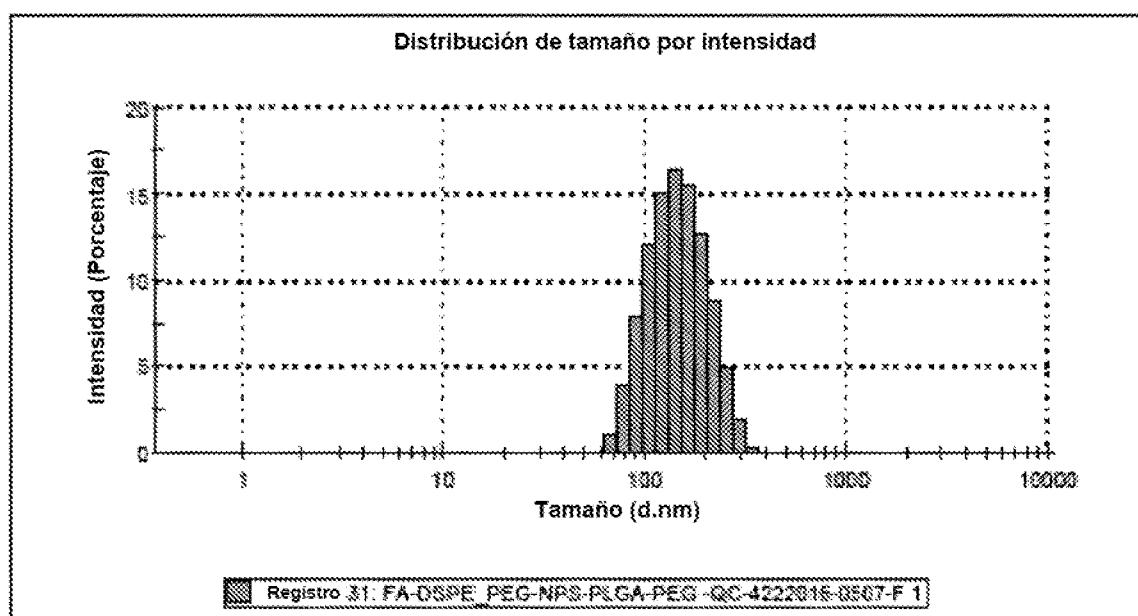


FIG. 7

**Resultados**

	Tamaño (d.nm):	% de intensidad:	Desv. est. (d.nm):
Promedio Z (d.nm):	137.4	Pico 1:	132.9 58.76
Std:	0.007	Pico 2:	0.000 0.000
Intercepción:	0.970	Pico 3:	0.000 0.000

Calidad del resultado: Buena



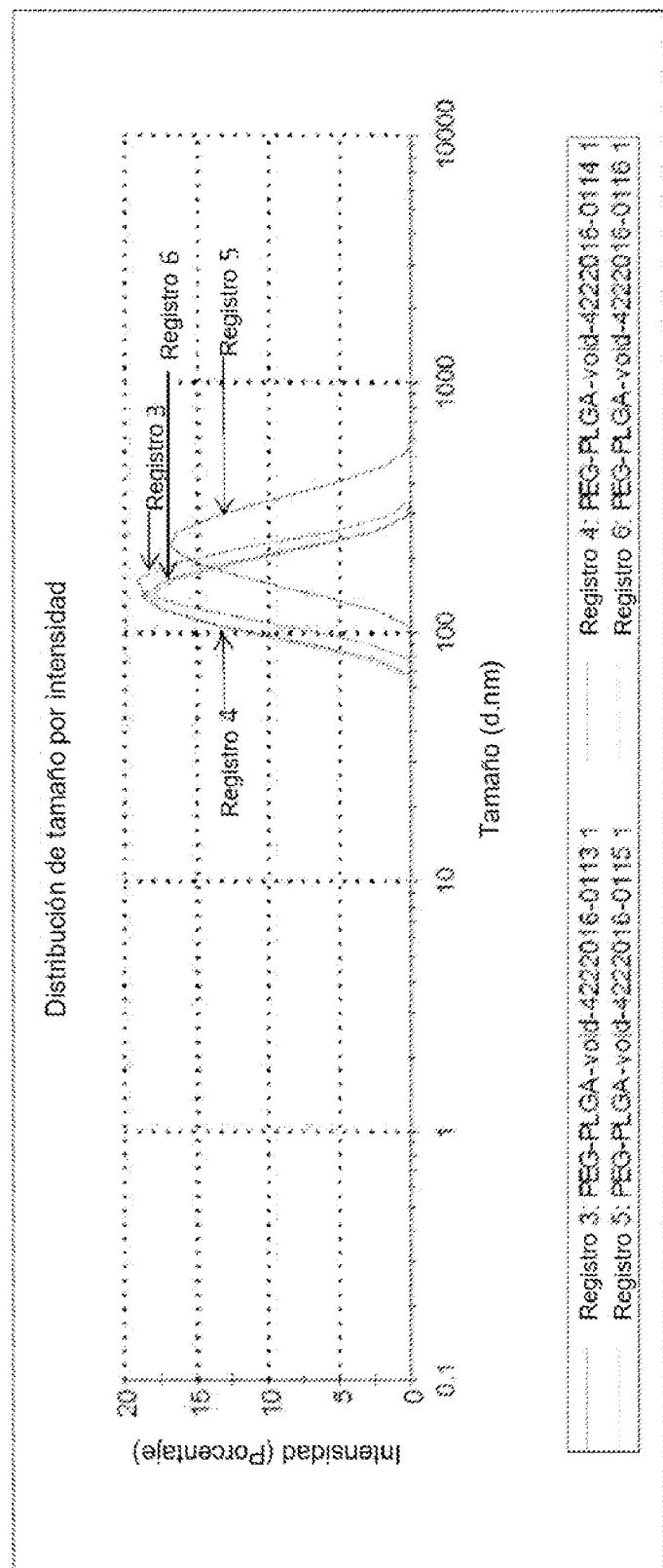


FIG. 8

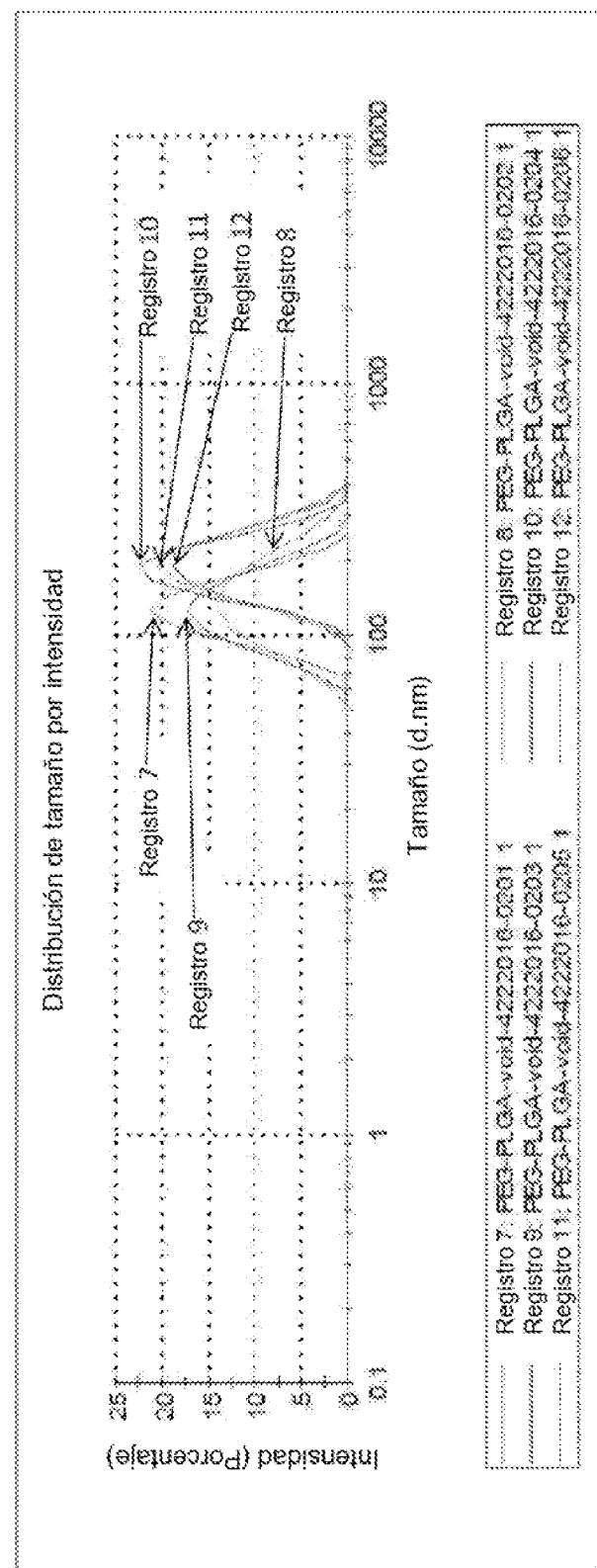


FIG. 9

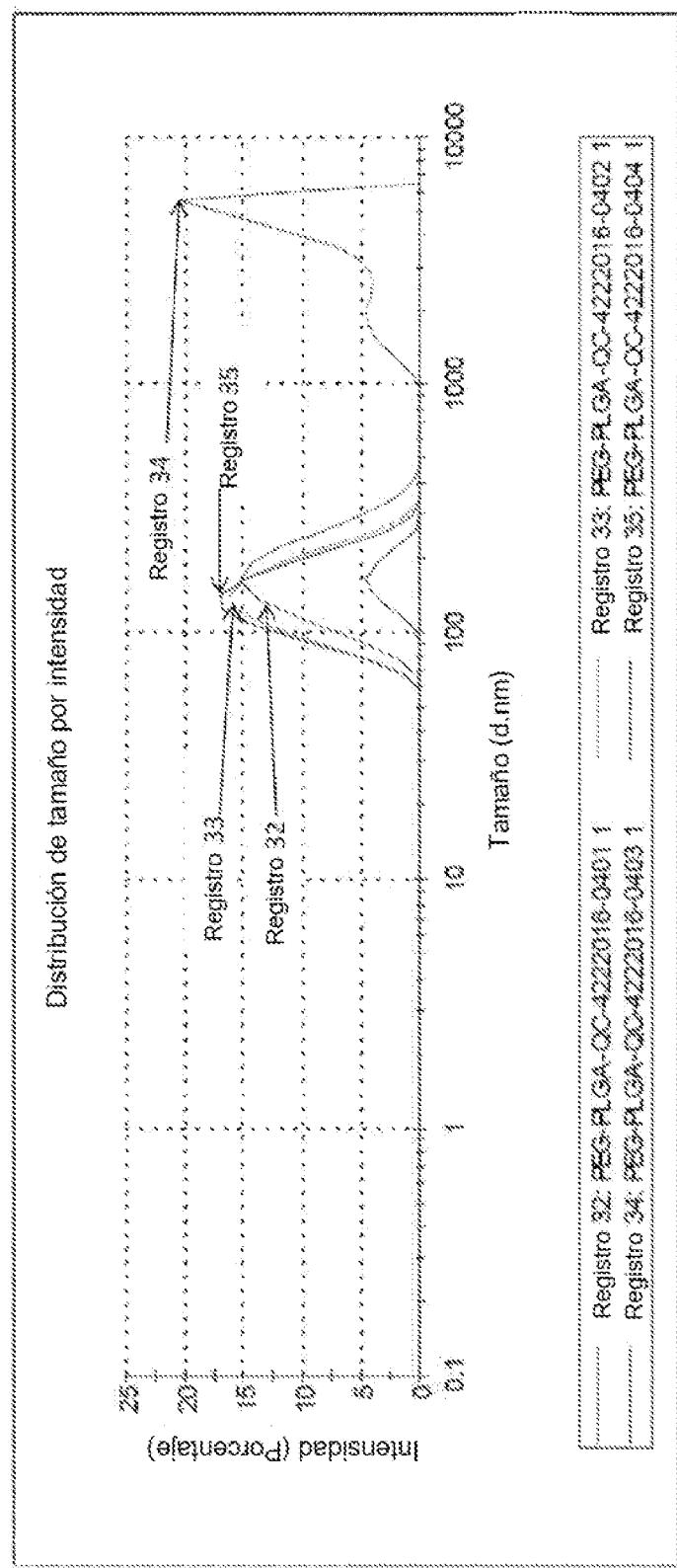


FIG. 10

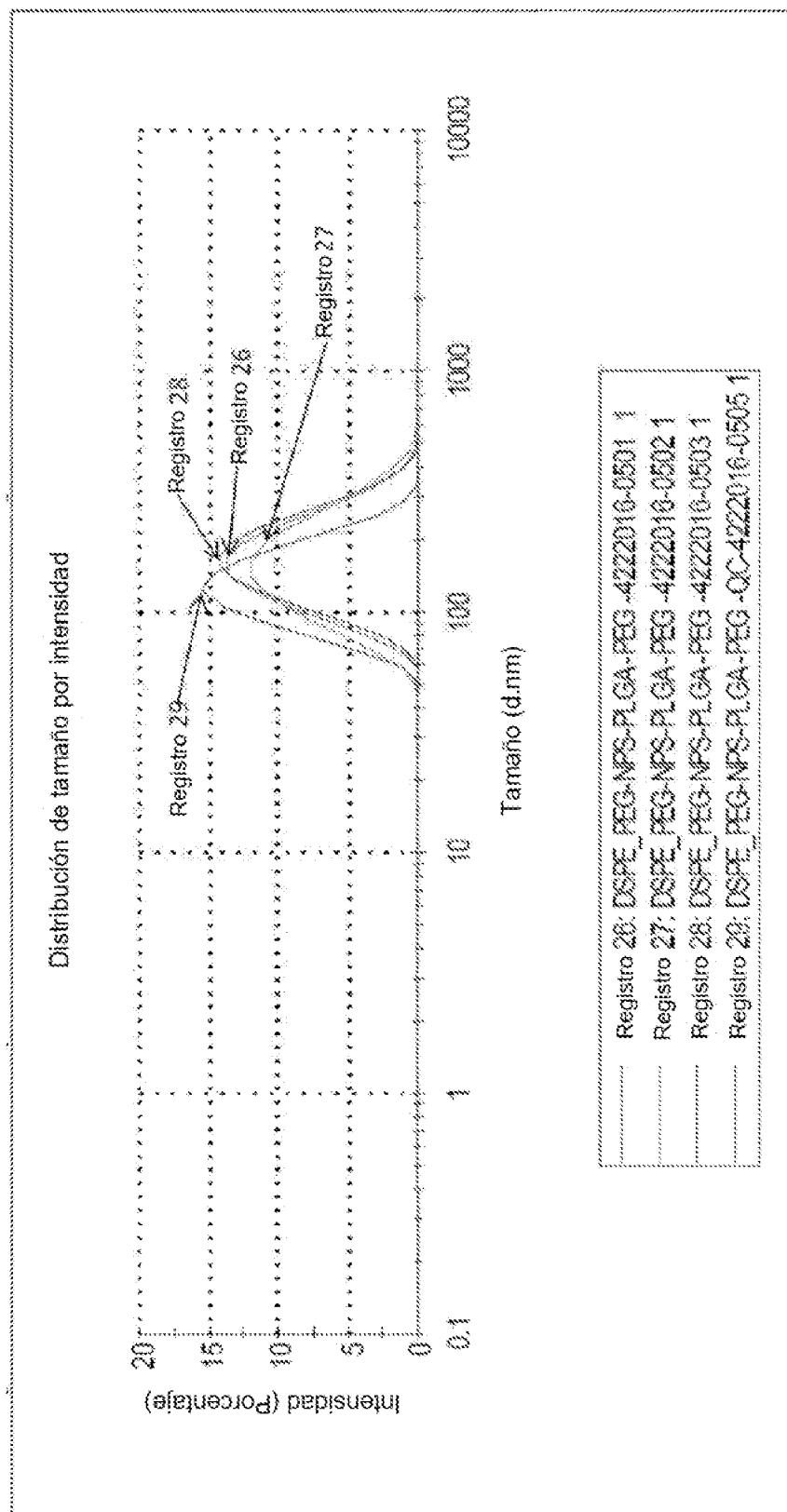
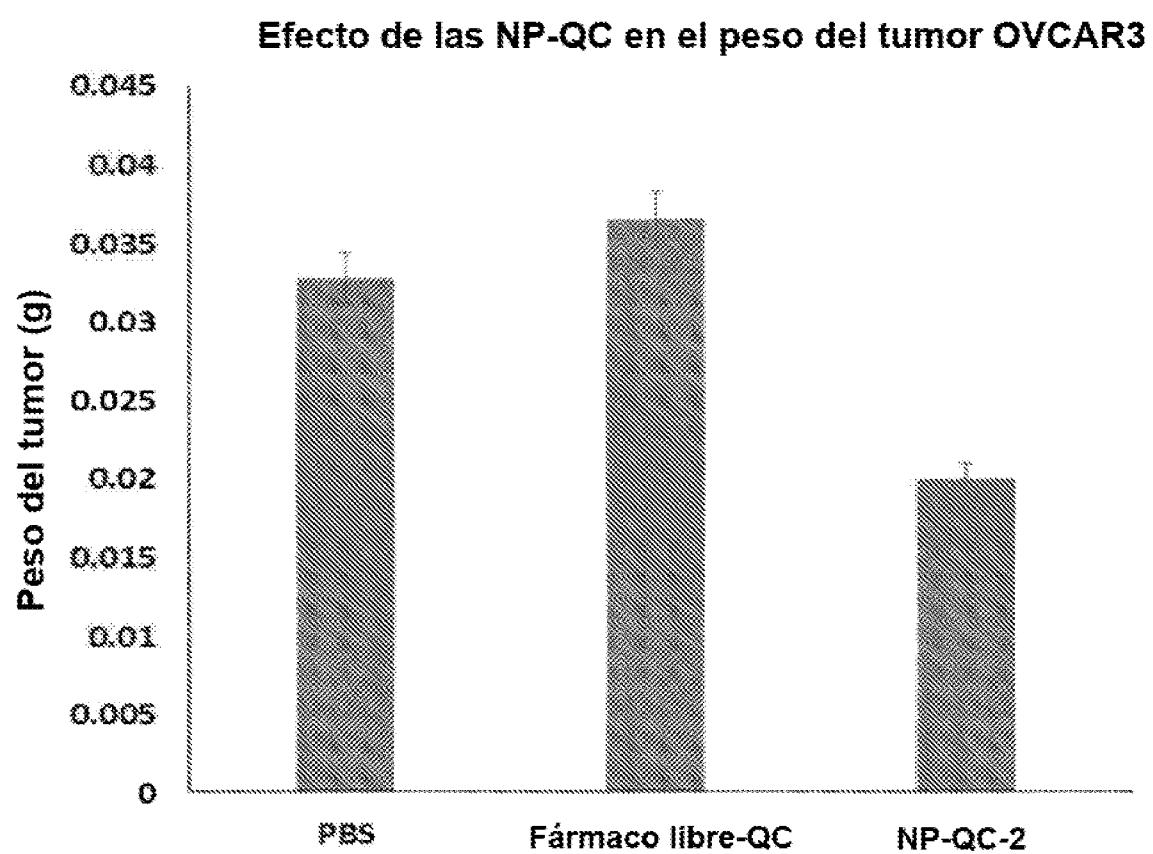


FIG. 11

FIG. 12



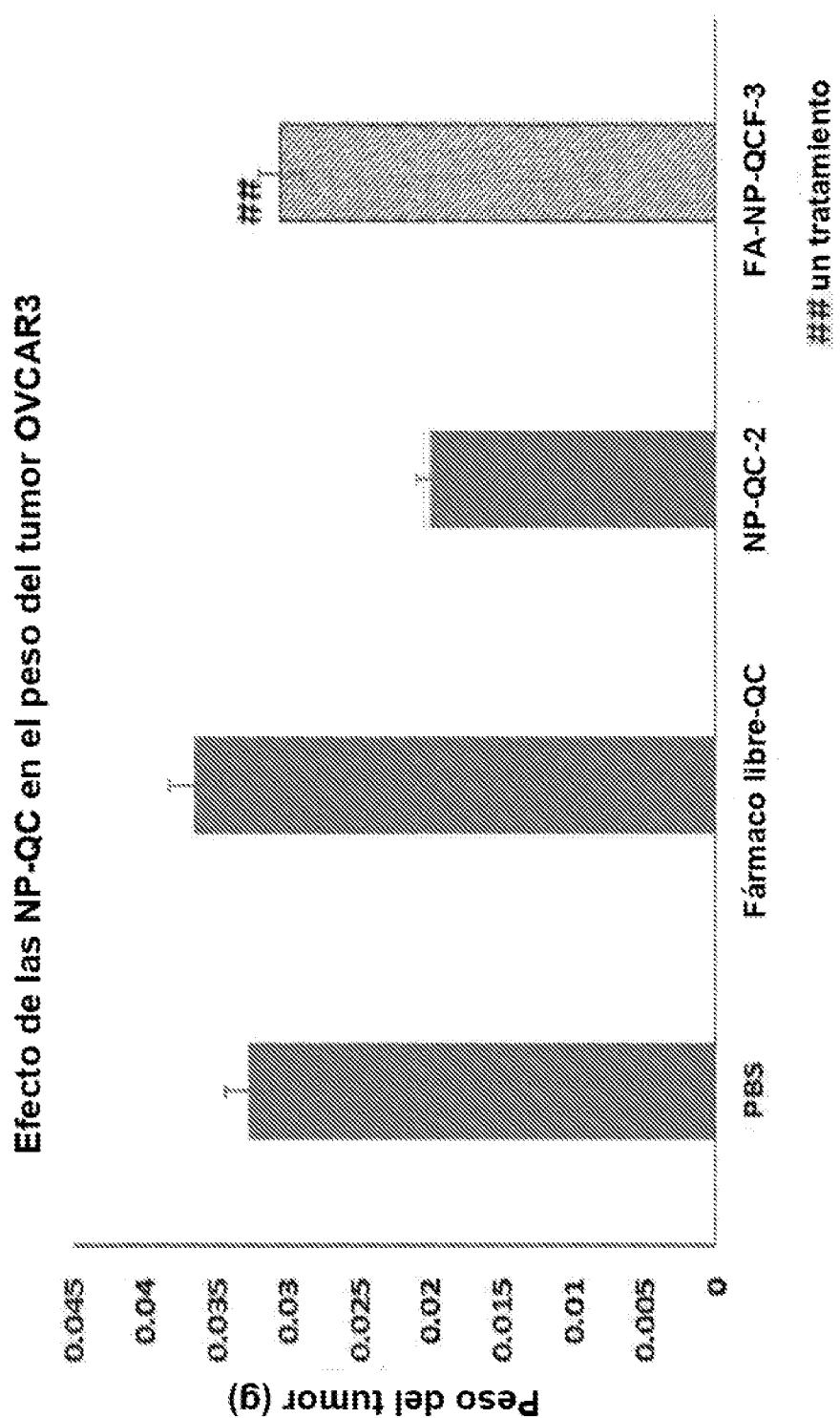


FIG. 13

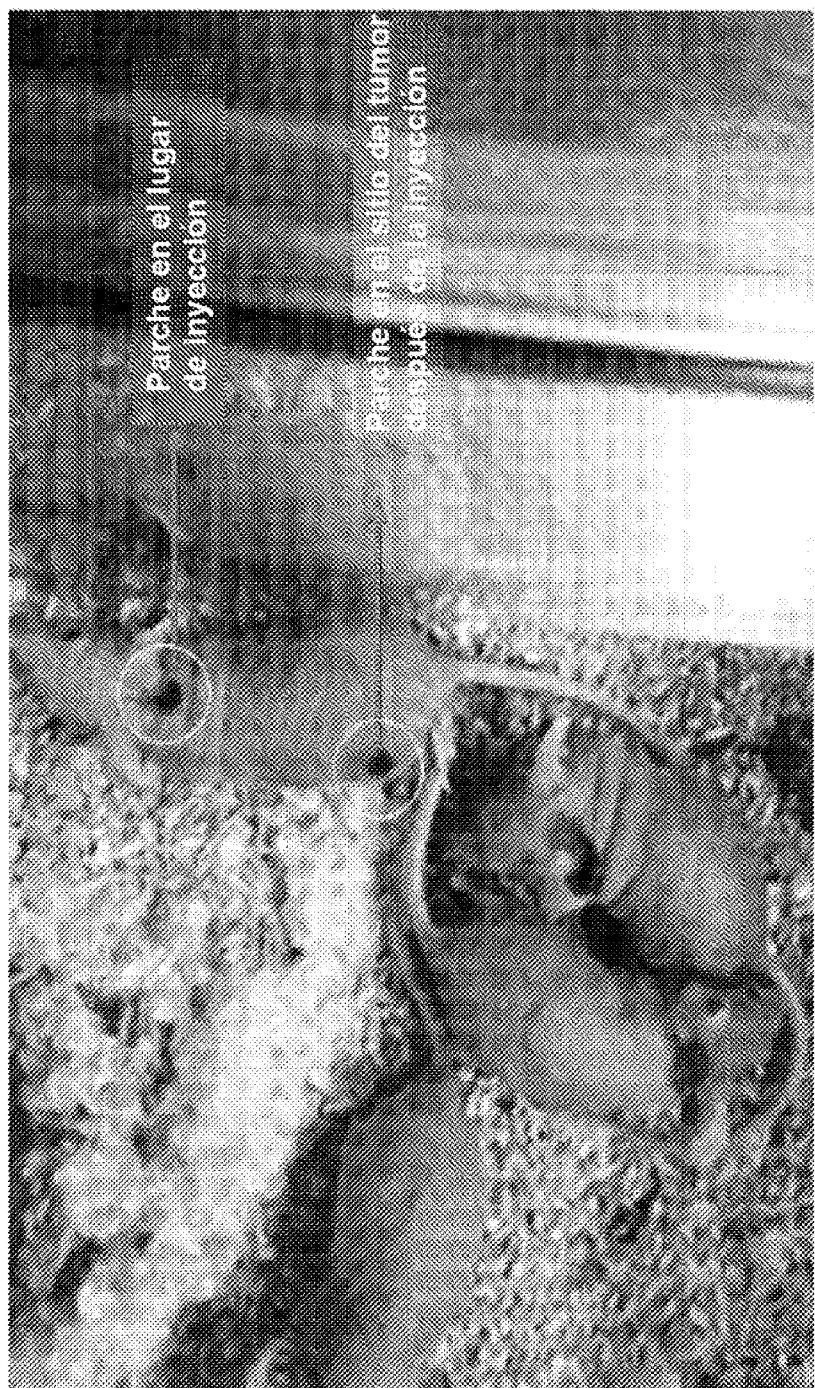


FIG. 14

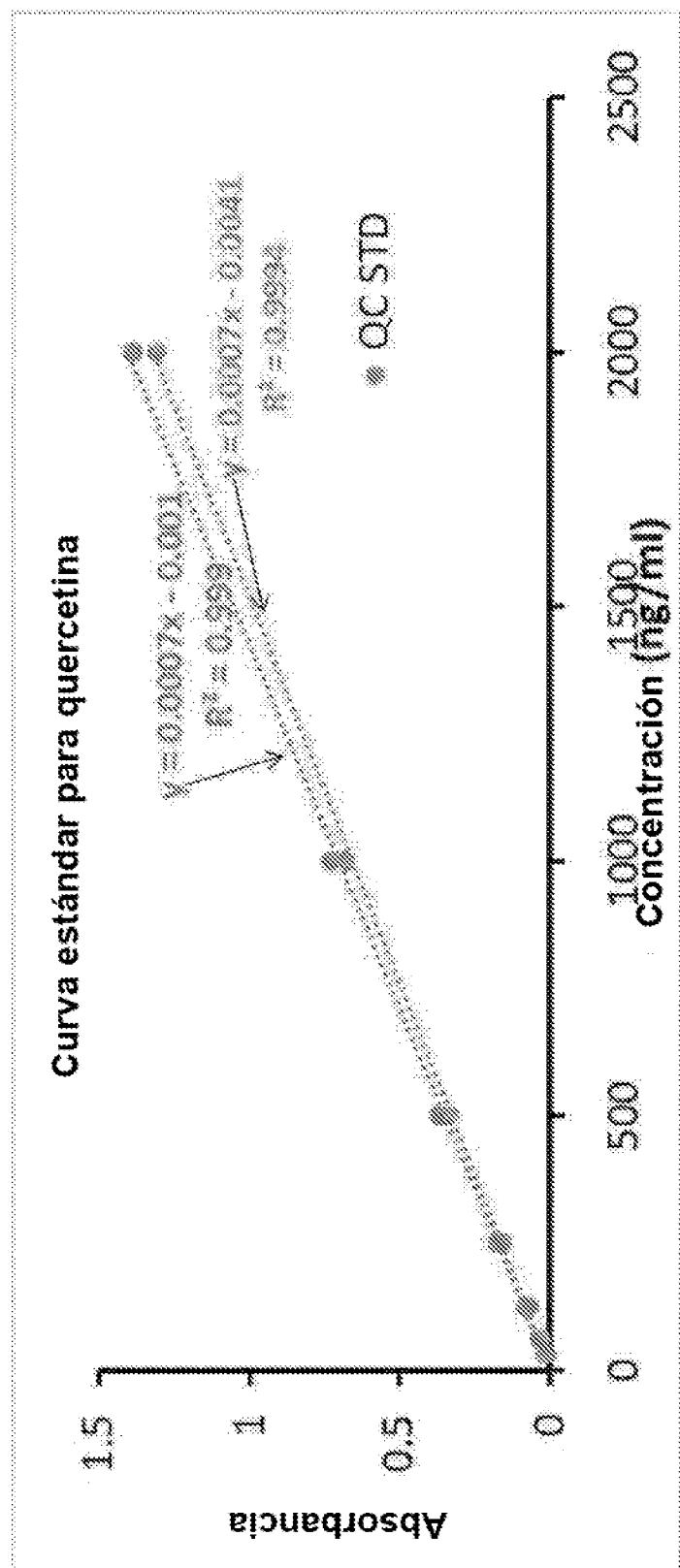


FIG. 15

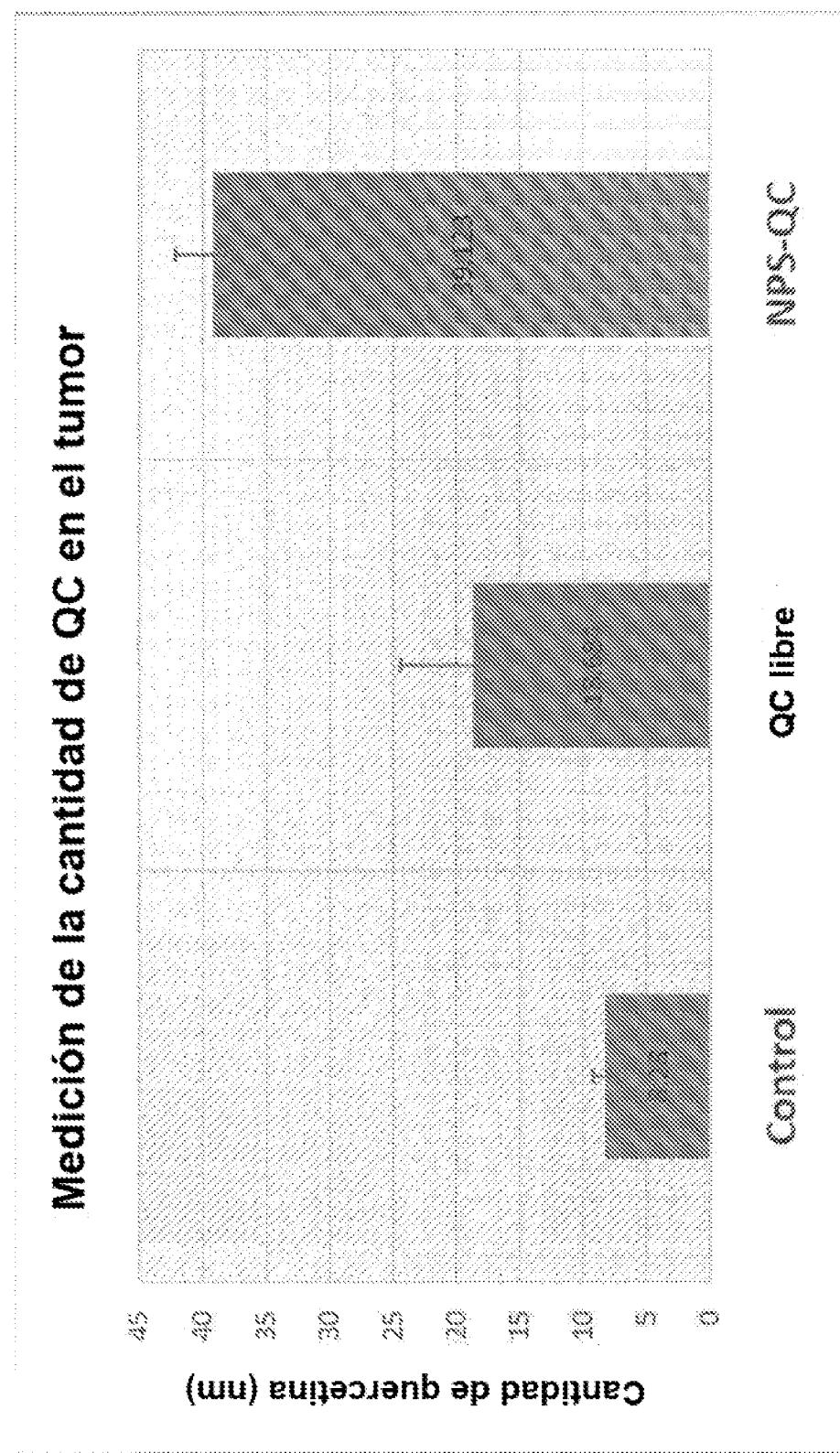


FIG. 16

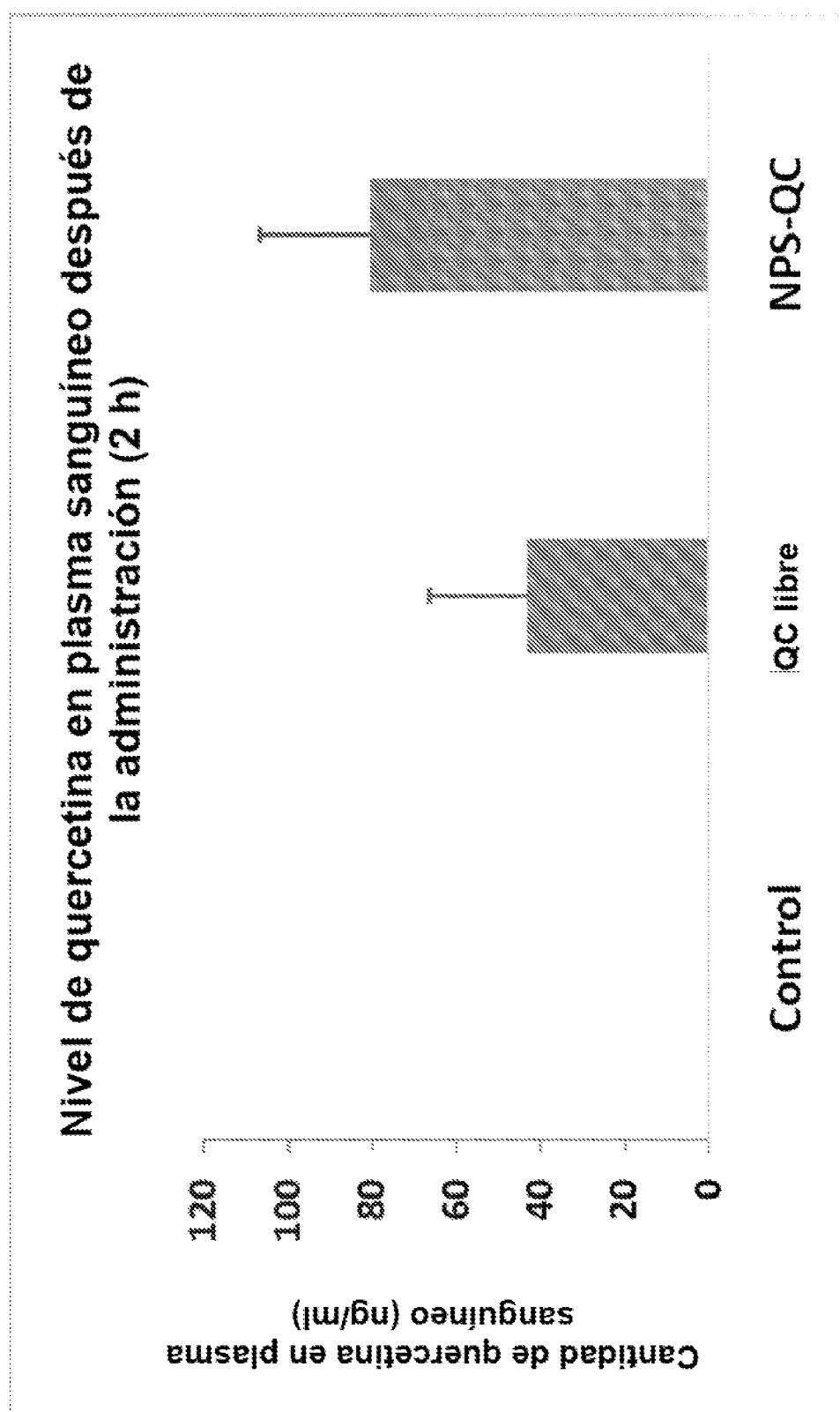


FIG. 18

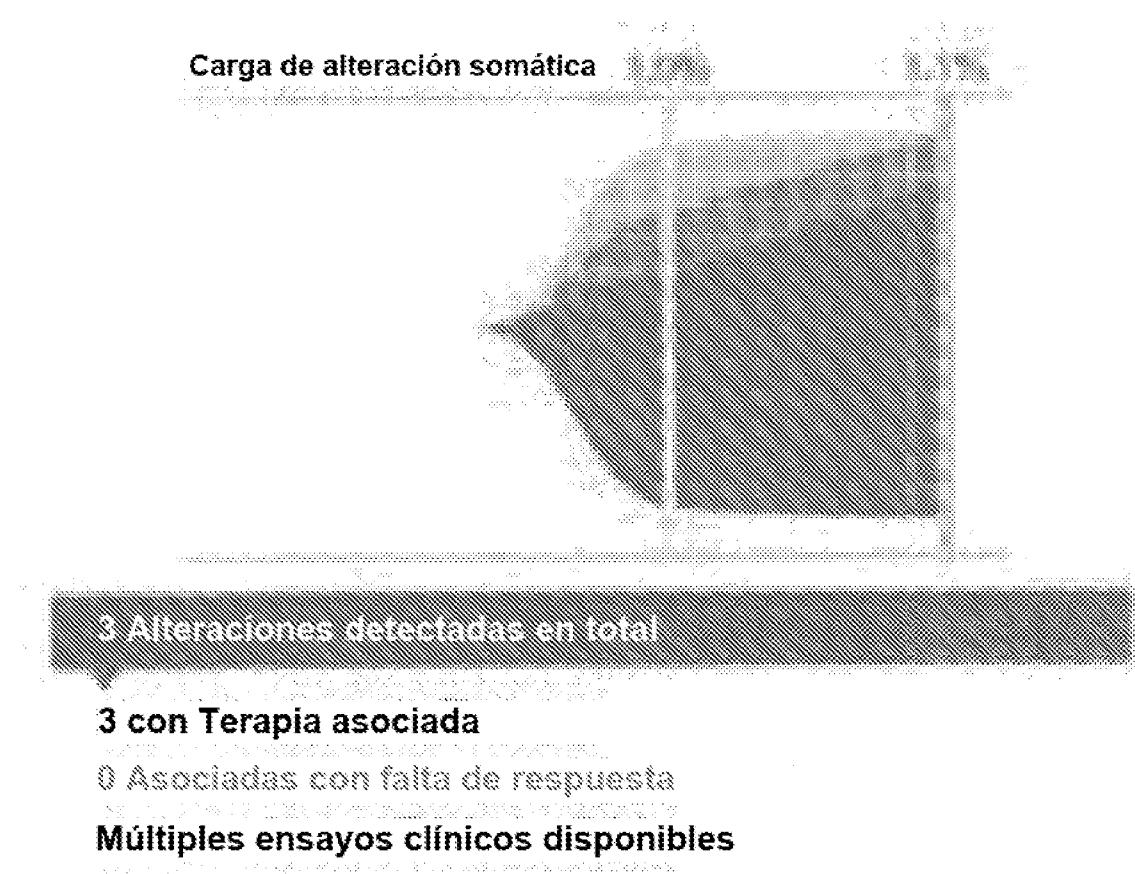


FIG. 19

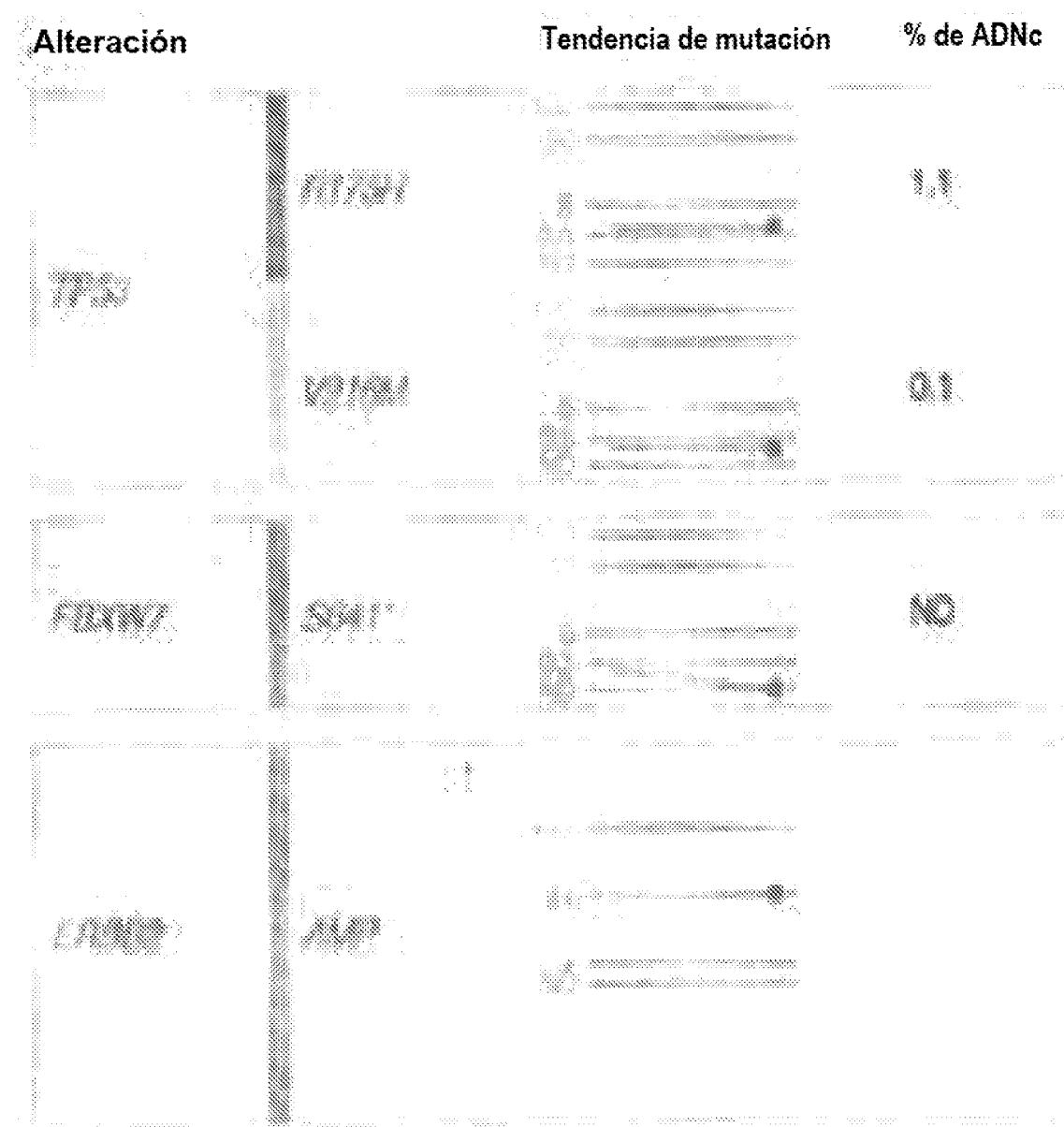


FIG. 20

### Línea de tendencia de CTC

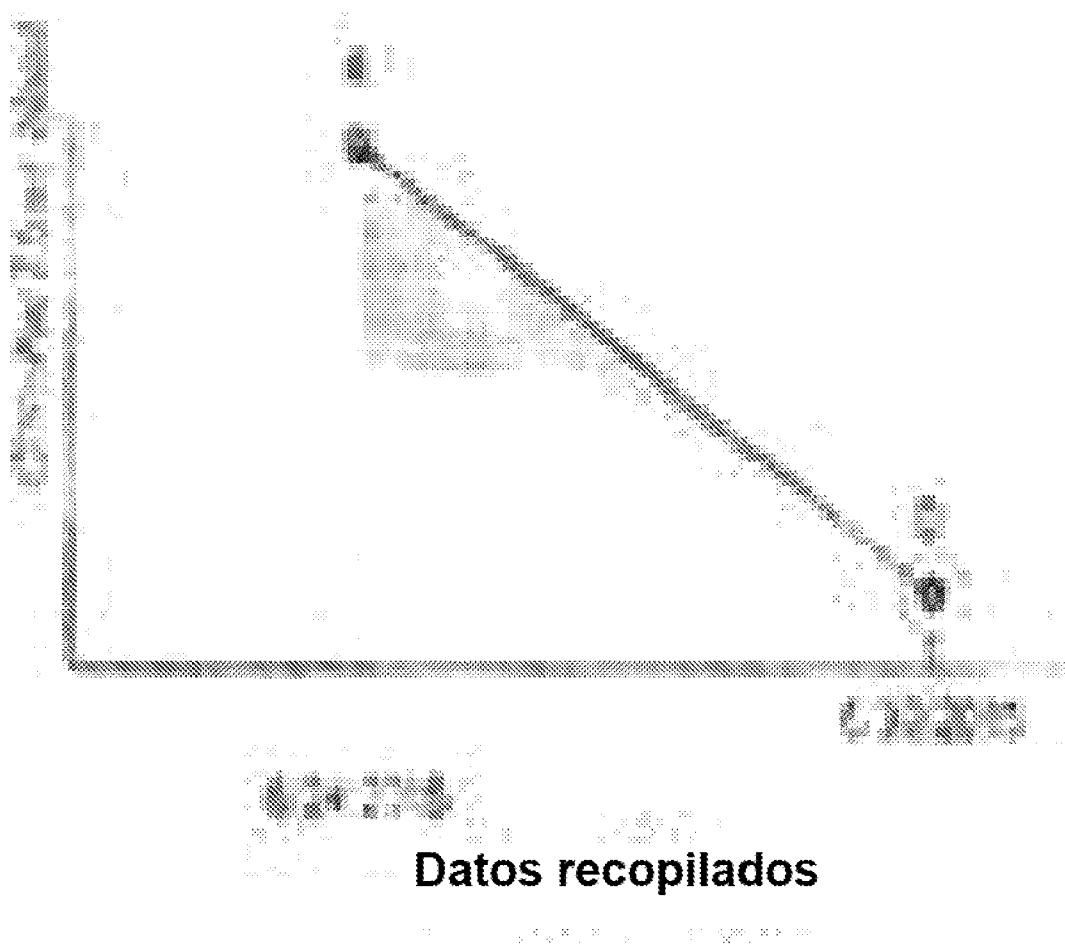


FIG. 21

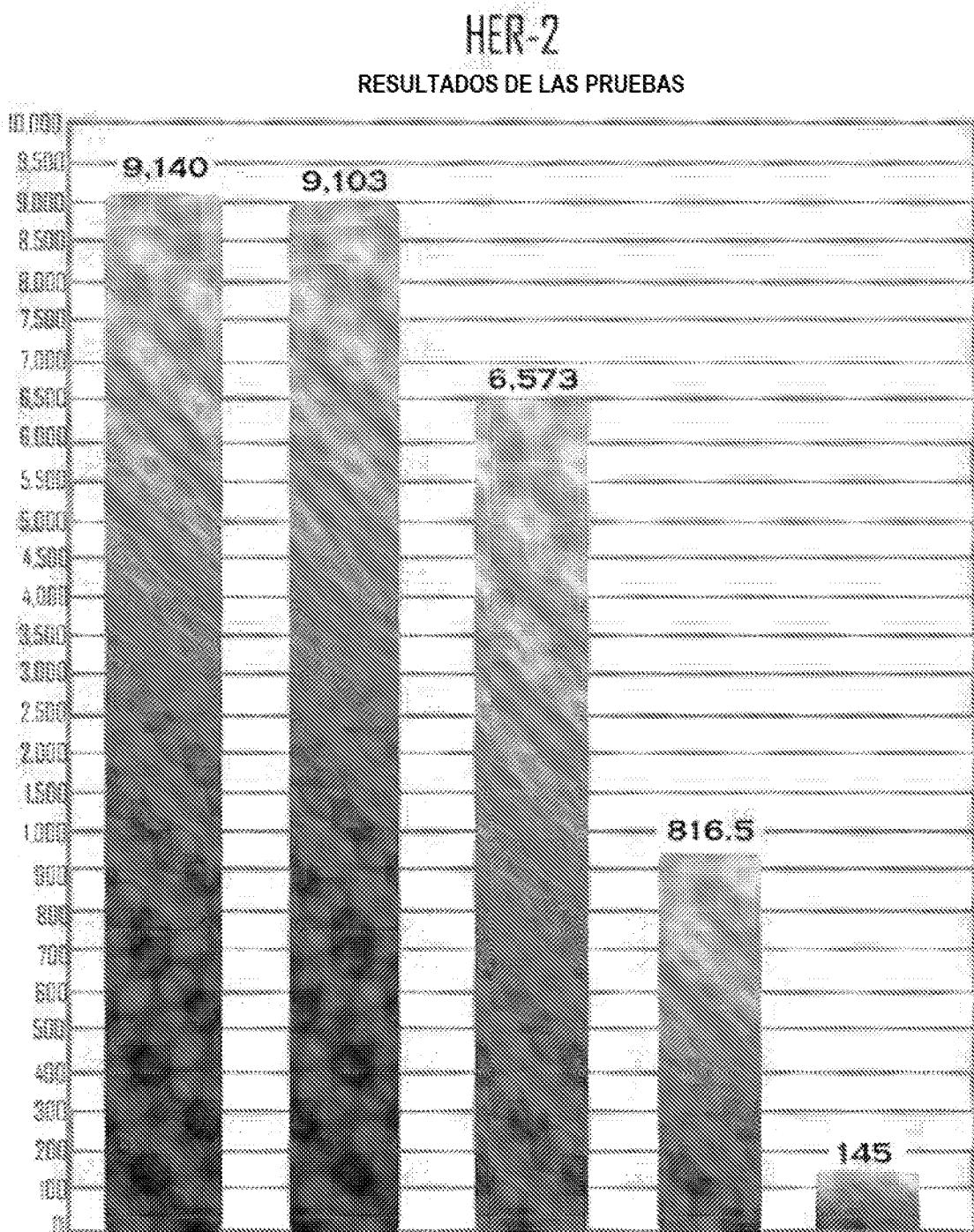


FIG. 22

## ANTÍGENO DE CÁNCER (CA) 15-3

### RESULTADOS DE LAS PRUEBAS

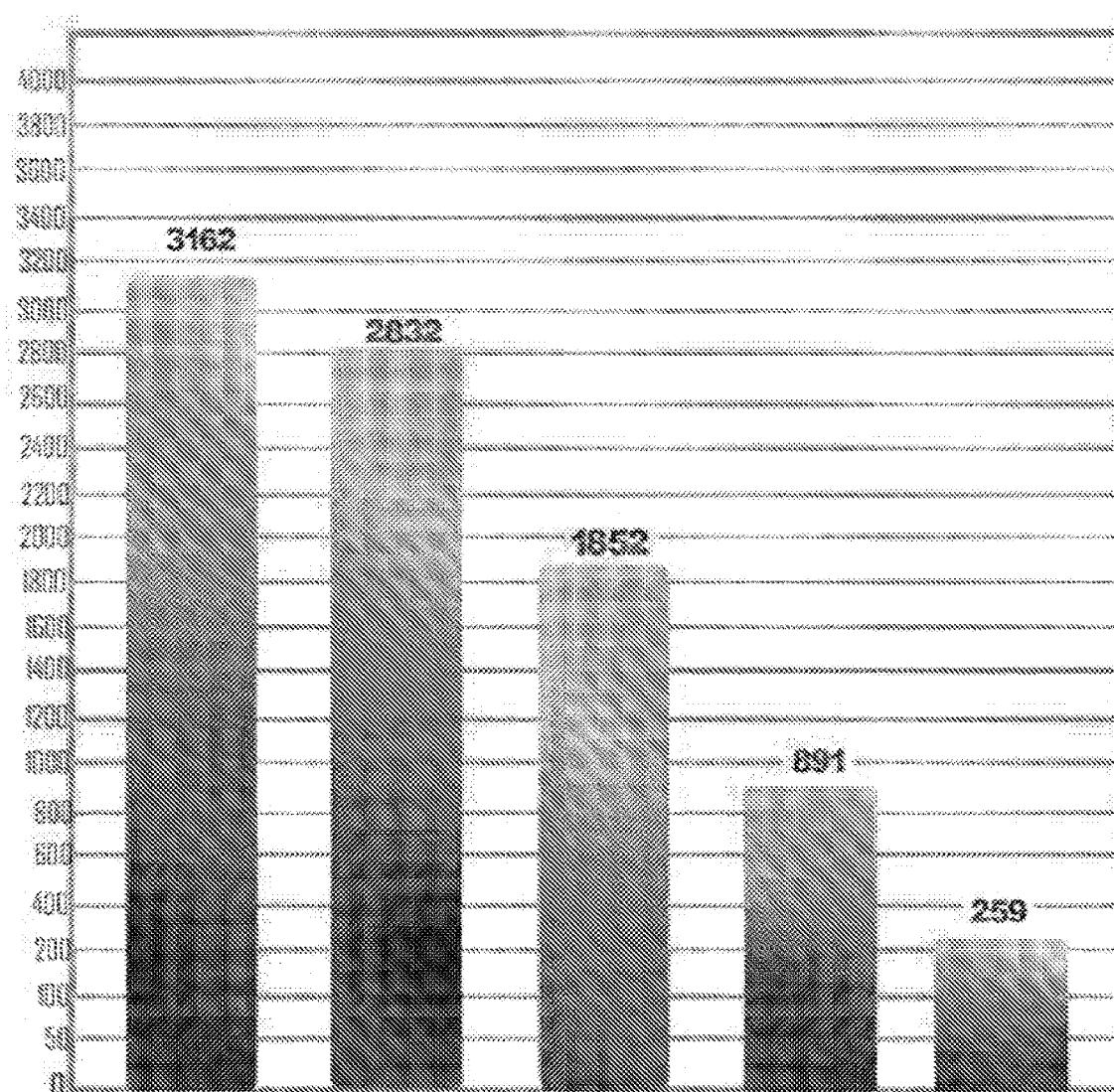


FIG. 23

## ANTÍGENO DE CÁNCER (CA) 27.29

### RESULTADOS DE LAS PRUEBAS

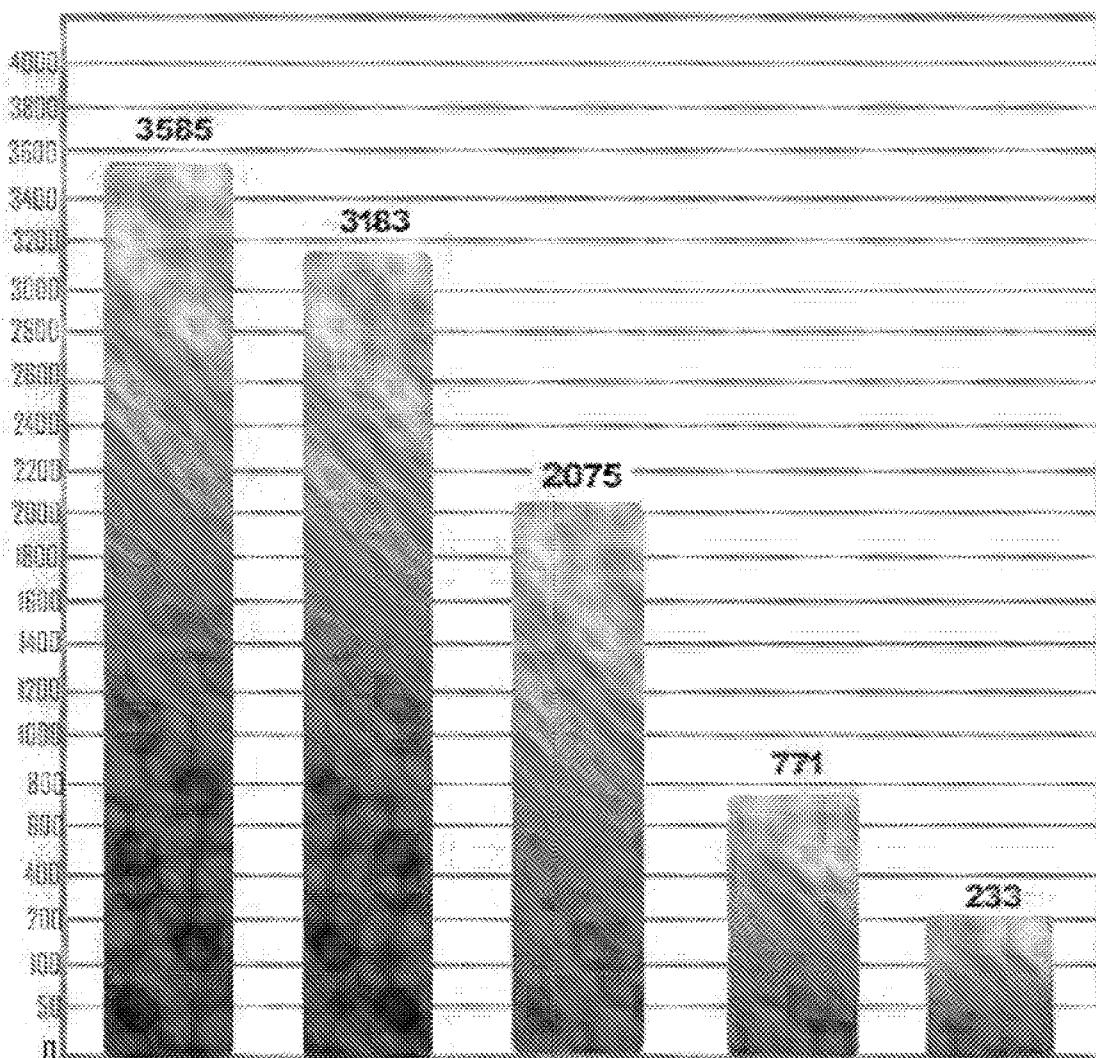
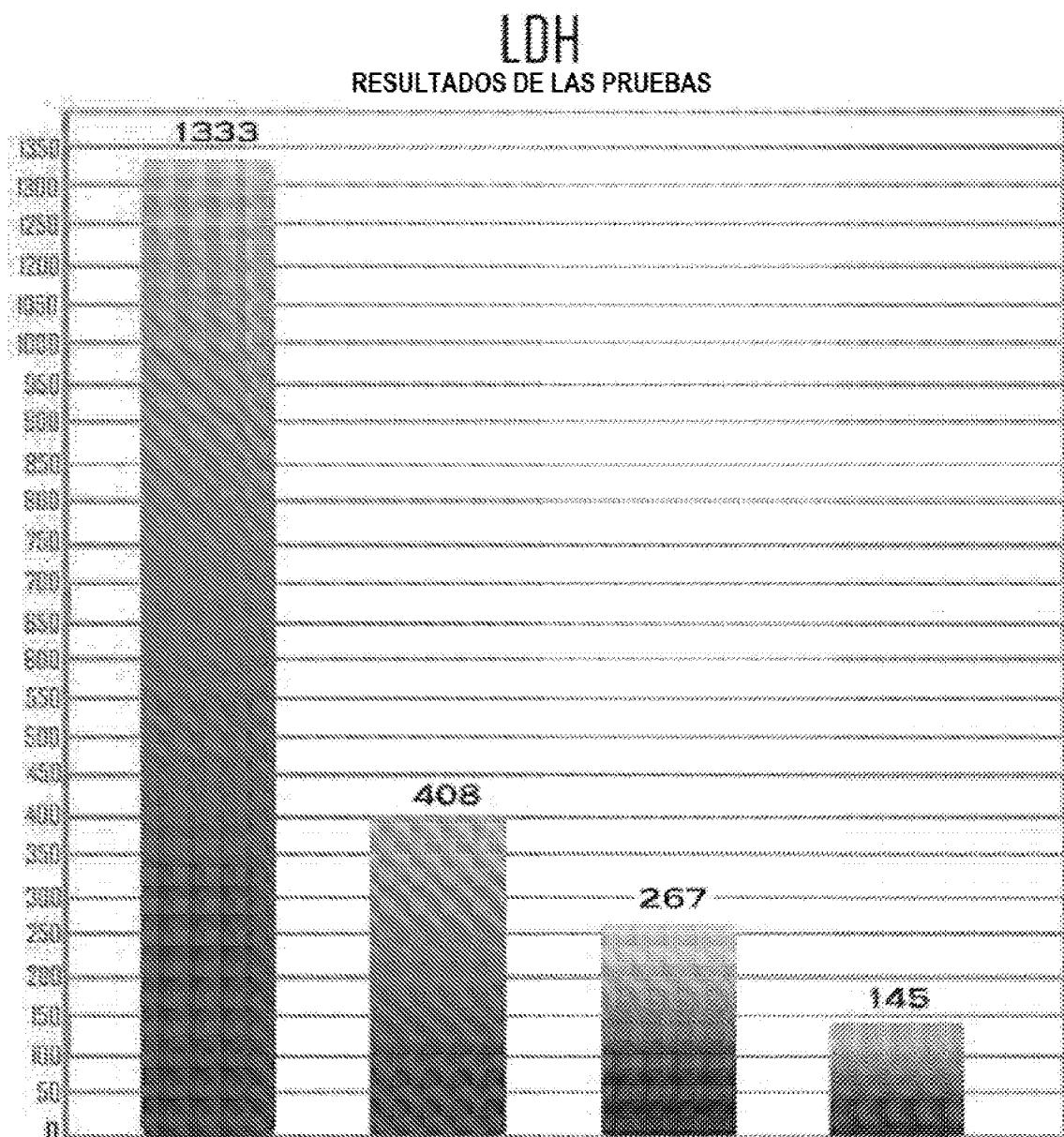


FIG. 24



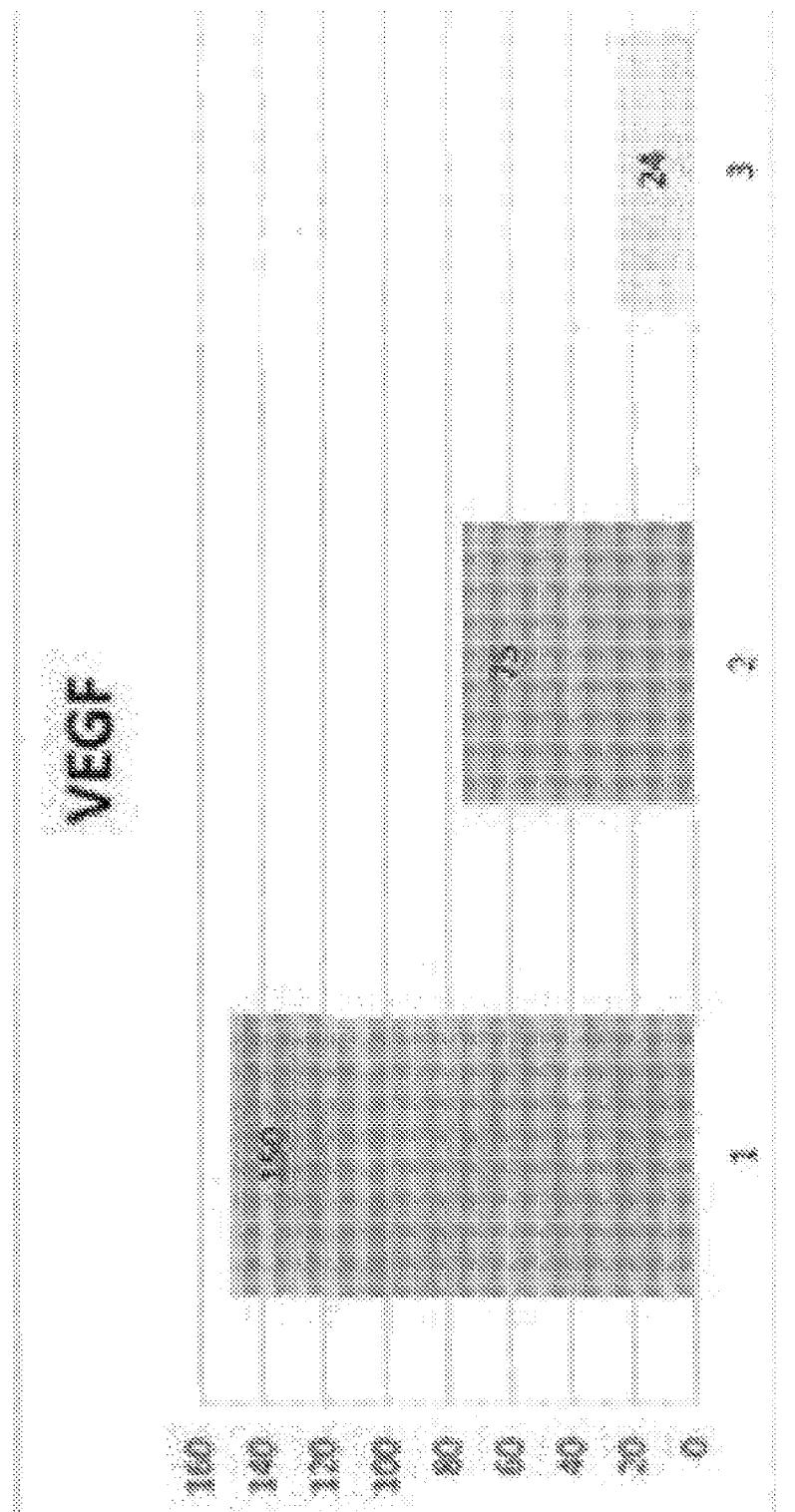


FIG. 25

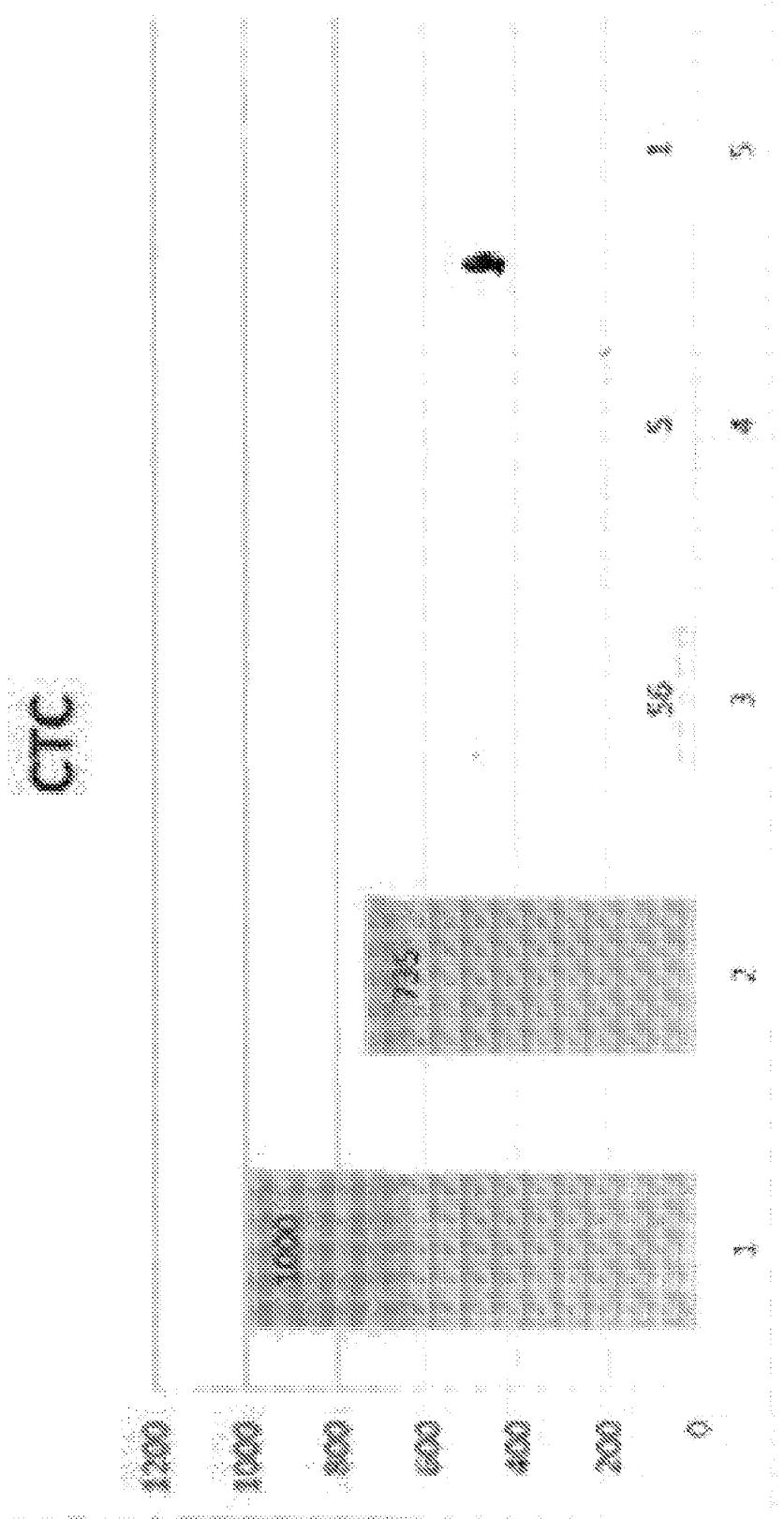


FIG. 26

# ES 3 012 841 T3

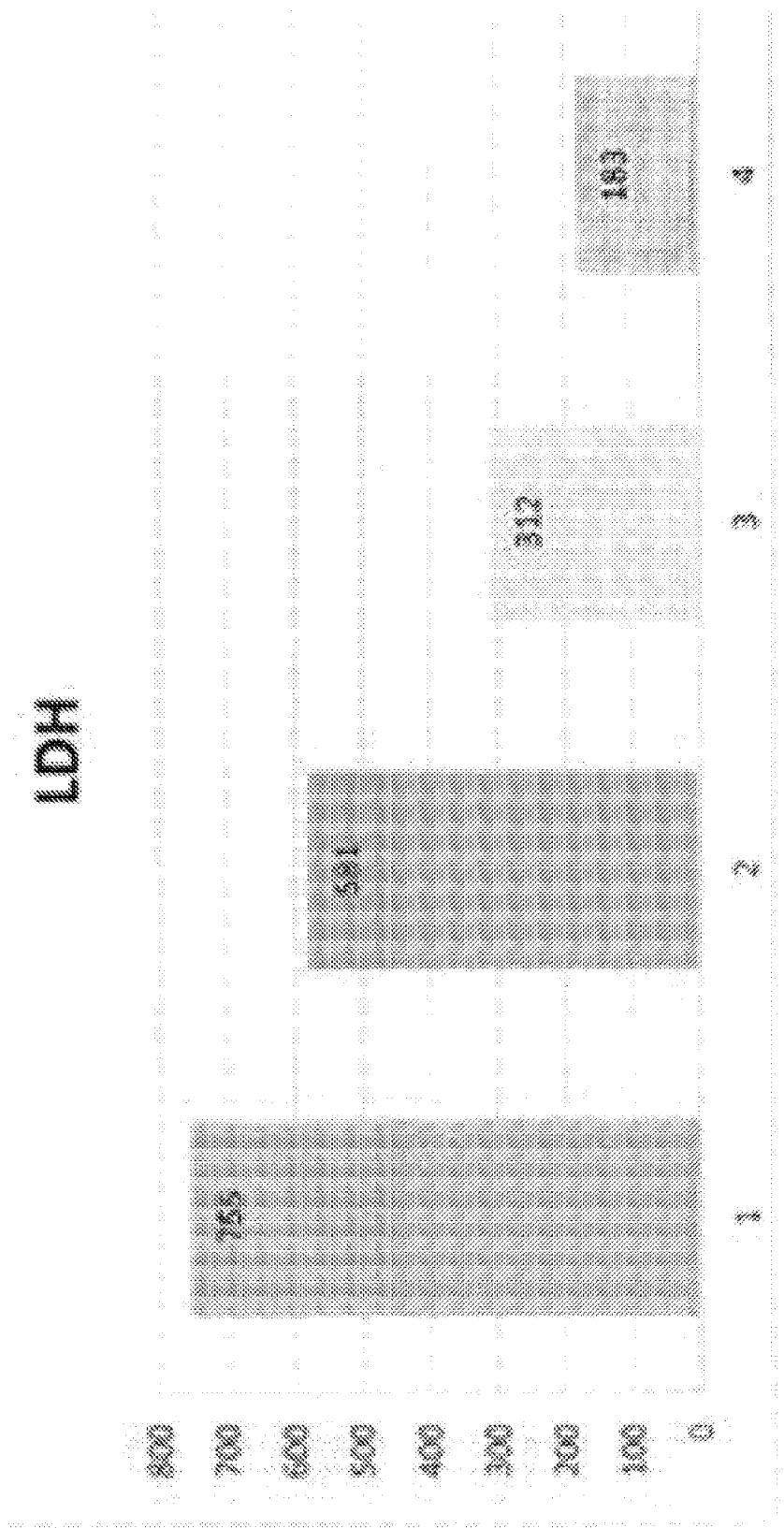


FIG. 27

FIG. 28

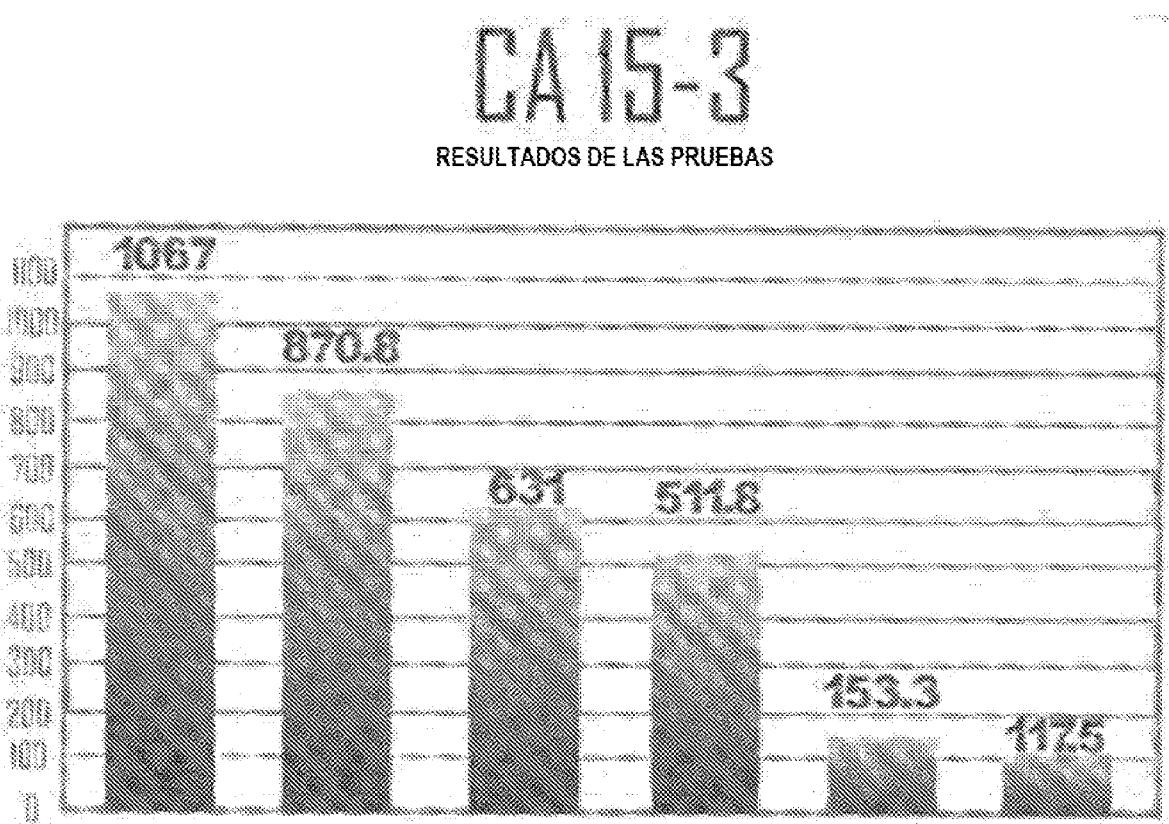


FIG. 29

**CA 27-29**  
**RESULTADOS DE LAS PRUEBAS**

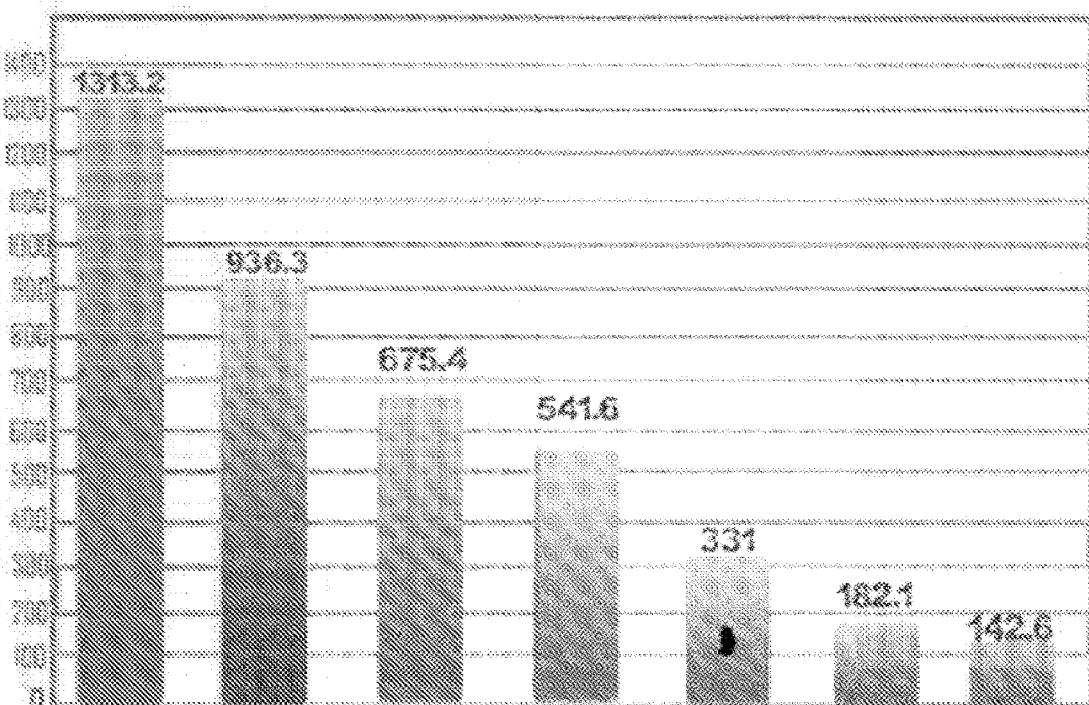
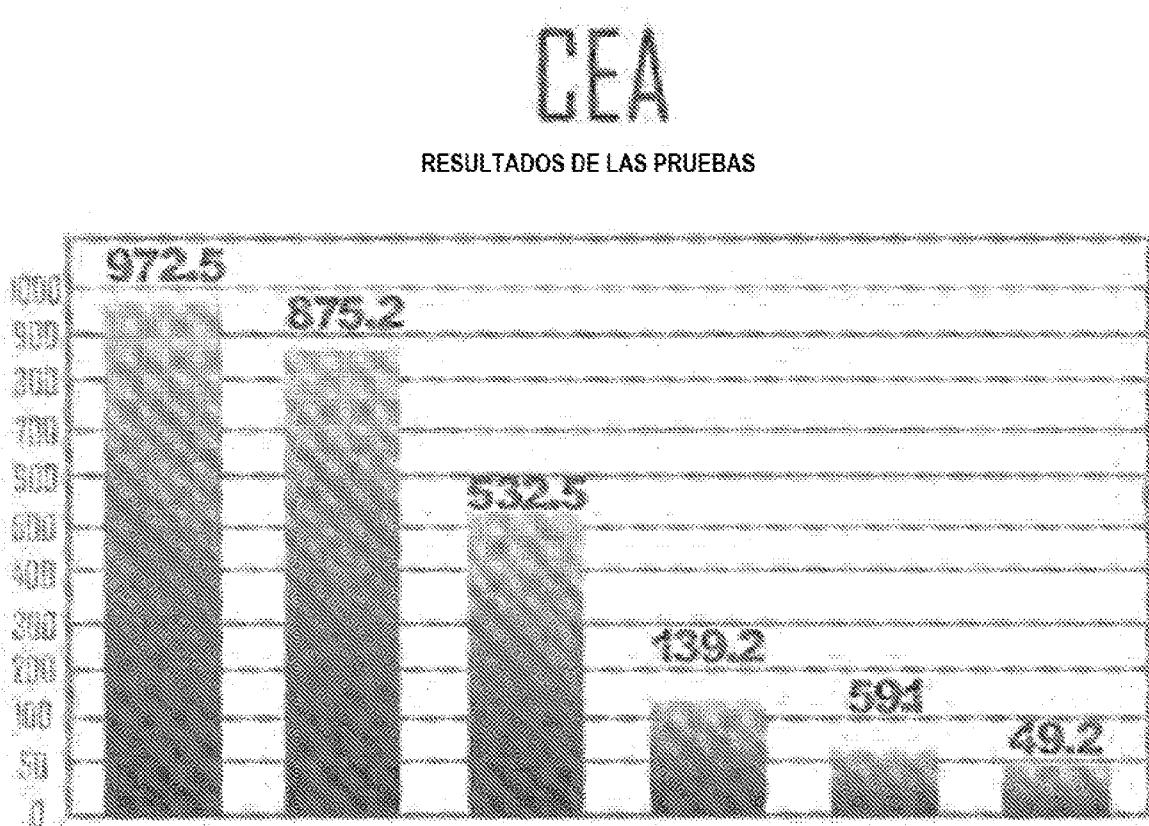


FIG. 30



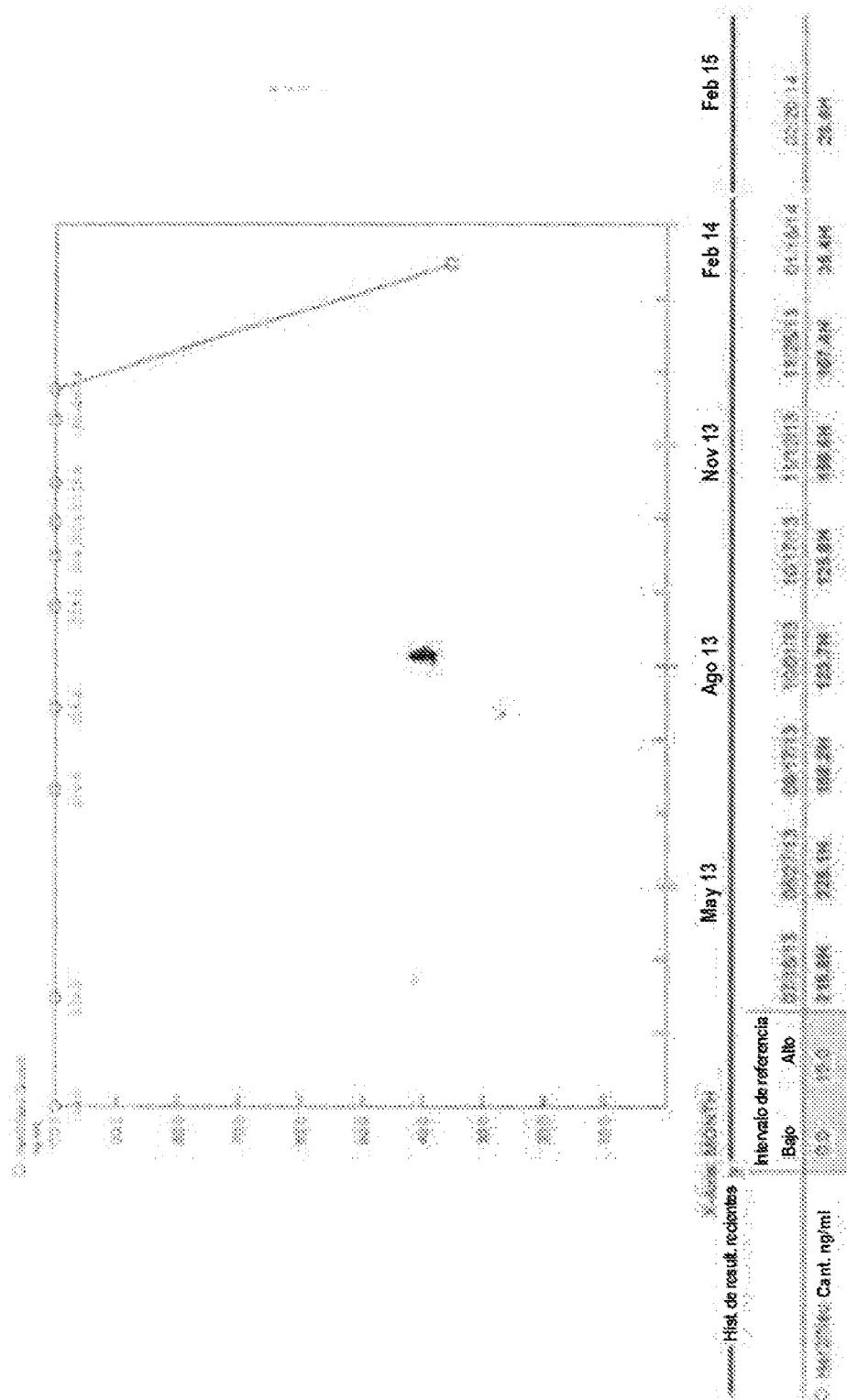
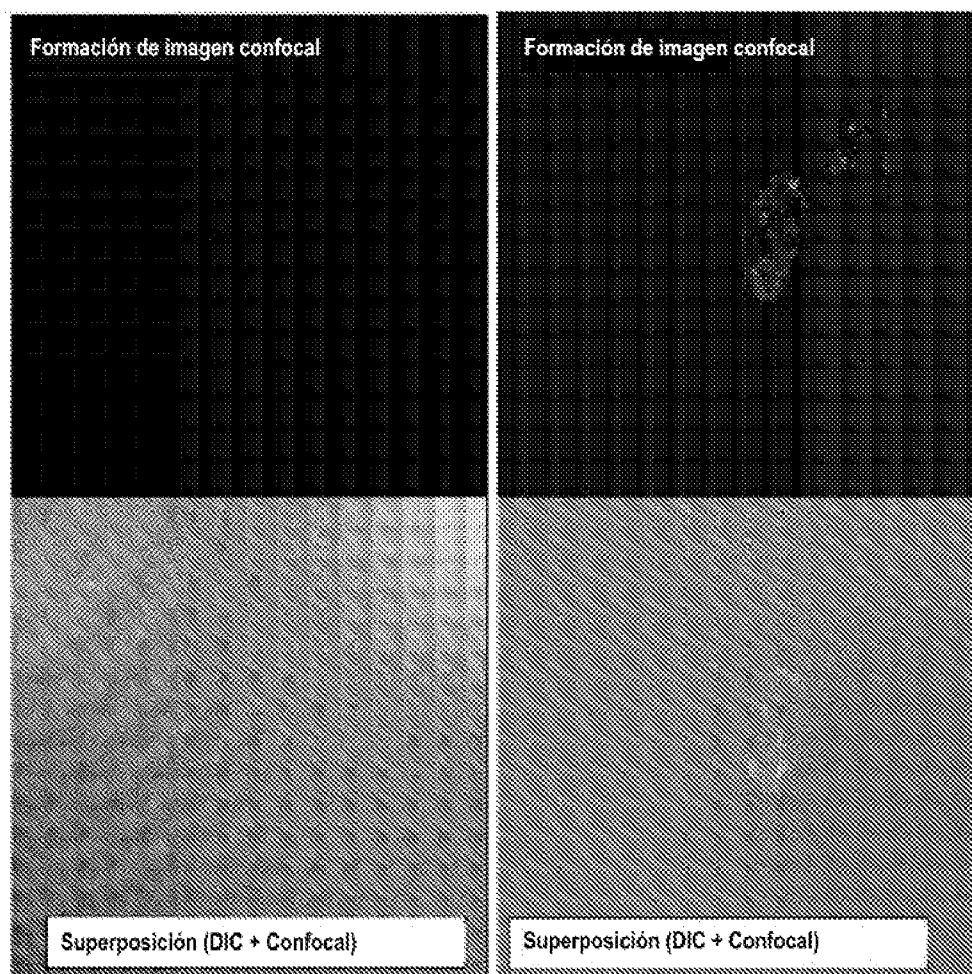


FIG. 31

FIG. 32



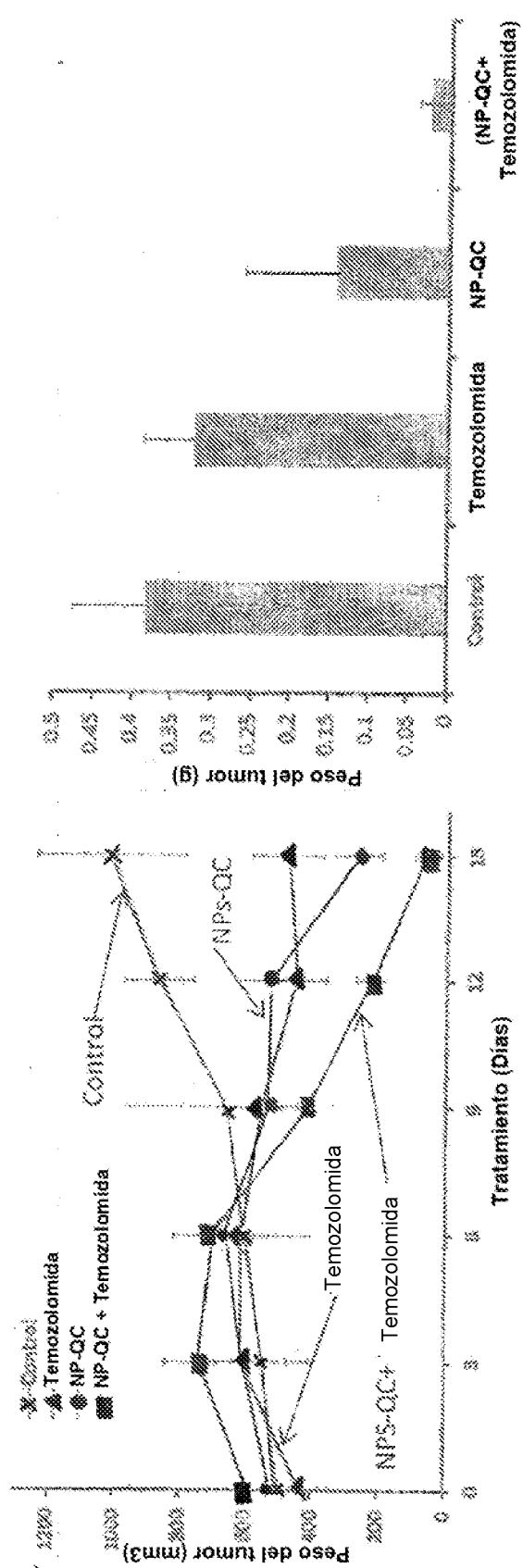


FIG. 33