

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 962 526**

51 Int. Cl.:

A61K 31/192	(2006.01)	A61K 31/519	(2006.01)
A61K 31/35	(2006.01)	A61K 31/5383	(2006.01)
A61K 31/4184	(2006.01)	A61K 45/06	(2006.01)
A61K 31/4375	(2006.01)	A61K 9/00	(2006.01)
A61K 31/47	(2006.01)	A61P 35/00	(2006.01)
A61K 31/4709	(2006.01)	A61P 35/02	(2006.01)
A61K 31/473	(2006.01)	A61P 35/04	(2006.01)
A61K 31/496	(2006.01)		
A61K 31/506	(2006.01)		
A61K 31/513	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.06.2018** **PCT/IN2018/050409**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2018** **WO18235103**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.06.2018** **E 18746305 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2023** **EP 3641747**

54 Título: **Secretagogos PAR-4 para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

22.06.2017 IN 201721021945

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.03.2024

73 Titular/es:

CIPLA LIMITED (100.0%)
Cipla House, Peninsula Business Park,
Ganpatrao Kadam Marg, Lower Parel
Mumbai, Maharashtra 400013, IN

72 Inventor/es:

MALHOTRA, GEENA;
JOSHI, KALPANA y
GHOSALKAR, JEEVAN

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 962 526 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

Secretagogos PAR-4 para el tratamiento del cáncer

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un agente inductor de la respuesta de apoptosis de la próstata 4 (PAR-4) para su uso en el tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesita. El agente inductor de PAR-4 (generalmente denominado secretagogos) se administra en cantidades suficientes para inducir la producción y/o la secreción del supresor de tumores PAR-4 por parte de las células, preferentemente en una cantidad suficiente para inhibir la proliferación y/o la metástasis de células cancerosas y/o reducir la recurrencia de tumores. El agente inductor de PAR-4 puede administrarse con o sin un tratamiento quimioterapéutico y otra terapia contra el cáncer. El agente inductor de PAR-4 también puede administrarse opcionalmente con radiación ionizante.

15 Antecedentes de la invención

El desarrollo y el avance del cáncer es un proceso multietapa que implica la acumulación de múltiples aberraciones genéticas. La más notable entre tales aberraciones es la pérdida de respuestas apoptóticas que normalmente sirven como puntos de control integrados contra la aparición de poblaciones celulares con rasgos disfuncionales o la adquisición de mecanismos pro-supervivencia que anulan las señales apoptóticas. La pérdida de mecanismos apoptóticos a menudo da como resultado una respuesta abreviada a la terapia contra el cáncer. Como tal, los investigadores y médicos están buscando activamente enfoques alternativos o combinatorios que destruyan las células cancerosas e induzcan la regresión del tumor.

25 Son especialmente difíciles de tratar aquellos cánceres que están relacionados hormonalmente y/o son cánceres metastásicos. Estos cánceres incluyen, por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mama y cáncer de pulmón. El melanoma también es difícil de tratar y tiene una tasa de supervivencia baja en comparación con muchos otros cánceres.

30 Una característica esencial de las estrategias contra el cáncer es la acción selectiva contra las células cancerosas, con poco o ningún daño infligido en las células normales. No obstante, los efectos secundarios de las terapias contra el cáncer son a menudo graves. Incluyen náuseas, vómitos, dolor, escaso apetito, consunción, caquexia, diarrea, ardor en el estómago, estrés, verrugas plantares, muerte nerviosa-neuropatía, quemaduras por radiación, cansancio, estreñimiento, anemia, ansiedad, sistema inmunológico debilitado, piel seca, supresión de la médula ósea y alopecia.

35 Como tal, la identificación de moléculas que puedan dirigirse específicamente a las células tumorales, con efectos adversos mínimos o nulos para las células normales, constituye un área importante de la investigación del cáncer. Estas moléculas con acción selectiva contra las células tumorales son valiosas no sólo por su potencial terapéutico; sino también por sus posibles aplicaciones como herramientas para la disección de diferencias fundamentales entre células normales y cancerosas. Por lo tanto, los métodos de tratamiento que se dirijan específicamente a determinados tipos de cánceres relacionados hormonalmente serían extremadamente útiles. Adicionalmente, los métodos de tratamiento que se dirijan a cánceres localizados en tejidos altamente vascularizados tales como, por ejemplo, pulmón, riñón, hígado o sangre, y métodos que se dirijan a cánceres difíciles de tratar, tales como, por ejemplo, melanoma, también serían altamente beneficiosos.

45 El documento WO 2016/196614, el documento US 2016/332971 y el documento WO 2015/077550 desvelan secretagogos de PAR-4 para su uso en el tratamiento del cáncer.

Objeto de la invención

50 Un objeto de la presente invención es proporcionar agentes inductores de PAR-4 para su uso en un método de tratamiento del cáncer.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar agentes para su uso en un método para tratar el cáncer en una población de células que comprende la célula cancerosa y las células normales.

55 Otro objeto de la presente invención es proporcionar agentes para su uso en un método para tratar el cáncer en una población de células que comprende la célula cancerosa y las células normales con una cantidad eficaz de agente o derivado farmacéuticamente aceptable del mismo durante un tiempo suficiente.

60 También se desvela una composición farmacéutica que comprende un agente inductor de PAR-4 para el tratamiento del cáncer.

También se desvela el uso de un agente inductor de PAR-4 para inducir PAR-4 en células.

65 También se desvela el uso de un agente inductor de PAR-4 para inducir GRP-78 en células.

Sumario de la invención

En su sentido más amplio, la presente invención proporciona un agente para su uso en el tratamiento del cáncer poniendo en contacto una población de células que comprende células cancerosas y células normales con una cantidad eficaz del agente que se selecciona de un grupo que consiste en: mebendazol, pironaridina, tafenoquina, minoxidil, ácido nalidíxico, esparfloxacino, ácido pipemídico y ofloxacino.

También se desvela una composición farmacéutica que comprende un agente inductor de PAR-4 para el tratamiento del cáncer.

También se desvela un método para inducir PAR-4 que comprende administrar un agente inductor de PAR-4.

También se desvela el uso de un agente inductor de PAR-4 para inducir GRP-78 en células.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Inducción dependiente de la dosis de PAR-4 por Pironaridina en células de fibroblasto embrionario de ratón

Figura 2: Inducción dependiente de la dosis de PAR-4 por Terconazol en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

Figura 3: Inducción de PAR-4 por Terconazol en lisado celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

Figura 4: Inducción de PAR-4 por Mefloquina en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

Figura 5: Con respecto al tratamiento con vehículo, Mefloquina indujo una fuerte elevación de PAR-4 en ratones a 51,2 mg/kg.

Figura 6: Inducción de GRP-78 por Mefloquina en líneas celulares de cáncer de ovario y renal

Figura 7: Inducción de PAR-4 por Narasina en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

Figura 8: Con respecto al tratamiento con vehículo, Narasina indujo una fuerte elevación de PAR-4 en ratones a 1,5 mg/kg

Figura 9: Inducción de PAR-4 por Mebendazol en sobrenadante y lisado celulares de células de fibroblasto embrionario de ratón

Figura 10: Inducción de GRP-78 por Mebendazol en líneas celulares de cáncer de ovario y renal

Figura 11: Inducción de PAR-4 por Tafenoquina en sobrenadante y lisado celulares de células de fibroblasto embrionario de ratón

Figura 12: Inducción dependiente de la dosis de PAR-4 por Tafenoquina en sobrenadante y lisado celulares de células de fibroblasto embrionario de ratón

Figura 13: Inducción de GRP-78 por Tafenoquina en líneas celulares de cáncer de ovario y renal.

Figura 14: Inducción de PAR-4 por Minoxidil en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón.

Figura 15: Inducción de PAR-4 por Ácido nalidíxico en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón.

Figura 16: Inducción de PAR-4 por esparfloxacino en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón.

Figura 17: Inducción de PAR-4 por Ácido pipemídico en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón.

Figura 18: Inducción de PAR-4 por Lopinavir en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón.

Figura 19: Inducción de PAR-4 por Ofloxacino en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de

ratón.

Descripción detallada de la invención

- 5 El supresor de tumores PAR-4 (respuesta de apoptosis de próstata-4) induce la muerte celular apoptótica específicamente en las células cancerosas, pero no en las células normales. Esta acción selectiva contra el cáncer se atribuye a su dominio SAC ubicado centralmente (El-Guendy *et al.* (2003) "Identification of a unique core domain of PAR-4 sufficient for selective apoptosis-induction in cancer cells". *Mol. Cell. Biol.* 23, 5516-5525).
- 10 La proteína PAR-4 no sólo tiene una función intracelular, sino que también se secreta por células tanto normales como cancerosas (Burikhanov *et al.* (2009). "The tumor suppressor PAR-4 activates an extrinsic pathway for apoptosis" *Cell* 138, 377-388.). PAR-4 secretada se une a su receptor GRP-78, que está regulado positivamente en la superficie de las células cancerosas e induce la apoptosis (Burikhanov *et al.* (2009); Bhattarai, T y Rangnekar VM (2010) "Cancer-selective apoptotic effects of extracellular and intracellular PAR-4" *Oncogene* 29, 3873-3880). El nivel basal de PAR-4 secretado por las células normales es inadecuado para inducir la apoptosis de las células cancerosas o inhibir el crecimiento de tumores (Burikhanov *et al.* (2009)). Sin embargo, los niveles elevados de PAR-4 extracelular producida mediante la inyección de PAR-4 recombinante en ratones, provoca la inhibición de tumores pulmonares metastásicos (Zhao *et al.* (2011) "Systemic PAR-4 inhibits metastatic tumor growth". *Cancer Biol Ther.* 12, 152-157). [0008] Hay varias moléculas pequeñas no aprobadas por la FDA, tales como Nutlina-3a, PS- 1145 y Arylquina- 1 (INV13/1947) que pueden aumentar la secreción de PAR-4 de células normales en ratones y los sueros de estos ratones indujeron apoptosis *ex-vivo* en cultivos de células cancerosas (Burikhanov *et al.* (2014) "Paracrine apoptotic effect of p53 mediated by tumor suppressor PAR-4". *Cell Reports* 6, 271-277; y Burikhanov *et al.*, "Arylquin- 1 targets vimentin to trigger PAR-4 secretion for tumor cell apoptosis" *Nature Chem Biol.* 10, 924-926 (2014)).
- 25 Los agentes inductores de PAR-4 son aquellas moléculas que inducen la secreción de PAR-4 de células normales, lo que induce la muerte celular apoptótica específicamente en células cancerosas pero no en células normales.

De acuerdo con la presente invención, los agentes inductores de PAR-4 son Mebendazol, Pironaridina, Tafenoquina, Minoxidil, Ácido nalidixico, Eparfloxacino, Ácido pipemídico y Ofloxacino.

- 30 Sorprendentemente, los inventores han descubierto que Adapaleno, Narasina, Mefloquina, Mebendazol, Terconazol, Pironaridina, Tafenoquina, Minoxidil, Ácido nalidixico, Eparfloxacino, Ácido pipemídico, Lopinavir y Ofloxacino poseen actividad inductora de PAR-4. En particular, se describe en el presente documento el sorprendente efecto de Adapaleno, Narasina, Mefloquina, Mebendazol, Terconazol, Pironaridina, Tafenoquina, Minoxidil, Ácido nalidixico, Eparfloxacino, Ácido pipemídico, Lopinavir y Ofloxacino incluyendo sus diversas formas salinas, para inducir una producción robusta de PAR-4 de células humanas y de ratón y puede usarse para inhibir la proliferación y/o la metástasis de células cancerosas, y para inhibir la formación de tumores recurrentes en sujetos que lo necesitan.

- 40 En el presente documento se describen métodos para aprovechar la capacidad de PAR-4 secretada por las células para inducir la apoptosis e inhibir el crecimiento tumoral de las células cancerosas. En los métodos descritos en el presente documento, también un aspecto de esta invención es un método para tratar a un sujeto que tiene células cancerosas que son deficientes en p53 pero que, sin embargo, experimentan inesperadamente apoptosis en respuesta a la exposición a PAR-4, administrando una cantidad eficaz de agente inductor de PAR-4 al sujeto. Una cantidad eficaz de agente inductor de PAR-4 es suficiente para aumentar la secreción de PAR-4 por las células hasta un nivel que induzca la apoptosis de las células cancerosas y/o inhiba la proliferación de dichas células cancerosas y/o inhiba la metástasis de dichas células cancerosas. En una realización, el agente para su uso de la presente invención comprende poner en contacto una población de células que comprende células cancerosas y células normales con una cantidad eficaz de agentes inductores de PAR-4 o un derivado farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde el tratamiento con la cantidad eficaz de agentes inductores de PAR-4 o un derivado farmacéuticamente aceptable de los mismos, destruye células cancerosas, inhibe la proliferación de células cancerosas, metástasis de células cancerosas y/o recurrencia de uno o más tumores.

- Una célula cancerosa deficiente en p53 puede tener un genotipo o fenotipo deficiente en p53. Para los fines descritos en el presente documento una célula cancerosa deficiente en p53 tiene, por ejemplo, una mutación en el gen p53, por ejemplo, inserción o inserciones, delección o delecciones de parte o de todo el gen, sustitución o sustituciones, etc., de tal manera que no se produce p53 o un p53 mutante, por ejemplo, uno que no se une al ADN eficazmente.

- La respuesta a la apoptosis de la próstata 4 (PAR-4) es un gen proapoptótico identificado en células de cáncer de próstata que se someten a apoptosis. La proteína PAR-4 existe en el citoplasma, el retículo endoplásmico y el núcleo. La proteína PAR-4, que contiene un dominio cremallera de leucina en el extremo carboxi, funciona como un represor transcripcional en el núcleo. En el núcleo, PAR-4 interactúa con el factor de transcripción WT1 para inhibir la proteína antiapoptótica Bcl2 y PAR-4 también inhibe la topoisomerasa TOP1. En el citoplasma, PAR-4 puede estar regulada por las quinasas Akt y ζ PKC y puede inhibir el factor de transcripción NEK6 para promover la muerte celular. PAR-4 induce la apoptosis en diversas células cancerosas pero no en células normales. PAR-4 se expresa de forma ubicua en células y tejidos normales. PAR-4 intracelular se fosforila por la proteína quinasa A (PKA) en un resto T155 específico que se encuentra en el dominio SAC (selectivo para la inducción de apoptosis en células cancerosas) de

PAR-4. La fosforilación del resto Thr155 permite el tráfico de Fas/FasL a la membrana plasmática. Fas/FasL interactúa con FADD provocando la activación de la ruta de muerte apoptótica Fas/FasL-FADD-Caspasa 8. El nivel basal de PKA en células normales es insuficiente para provocar la fosforilación de T155, haciendo de esta manera a las células normales resistentes a la apoptosis mediada por PAR-4.

5 El PAR-4 extracelular se une a su receptor GRP-78 en la superficie de las células cancerosas e induce la apoptosis. En contraste, las células normales expresan niveles bajos o indetectables de GRP-78 en la superficie celular basal o inducible y son resistentes a la apoptosis por PAR-4 extracelular. GRP-78, anteriormente conocida como proteína prosupervivencia, está implicada en la señalización apoptótica inducida por PAR-4 y TRAIL. TRAIL se une a receptores de la superficie celular tales como DR5 y DR4, que reclutan FADD y caspasa 8 en un DISC (complejo de señalización inductor de muerte) para iniciar la muerte celular extrínseca. Tanto el PAR-4 intracelular como el secretado desempeñan un papel en la inducción de la apoptosis mediante mecanismos dependientes de caspasa.

15 Debido a que los niveles basales de PAR-4 secretados por las células normales son generalmente inadecuados para provocar una apoptosis masiva en cultivos de células cancerosas, los secretagogos que refuerzan la liberación de PAR-4 constituyen un importante avance terapéutico. Nutlina-3a, desarrollada originalmente como un inhibidor de MDM2, estimuló la secreción de PAR-4 a niveles micromolares en células de fibroblastos embrionarios de ratón (MEF).

20 PAR-4 se co-localiza con vimentina. La vimentina es una proteína de filamento intermedio (IF) de tipo III que se expresa en células mesenquimales y es el principal componente citoesquelético de las células mesenquimales. Los secretagogos como nutlina/arylquina 1, que provocan la estimulación de la secreción de PAR-4, exhiben esta función uniéndose a la vimentina y liberando PAR-4 unida a vimentina para la secreción. Esta PAR-4 secretada se une a su receptor GRP-78, que está regulado positivamente en la superficie de las células cancerosas e induce la apoptosis. Hay varias moléculas pequeñas no aprobadas por la FDA que pueden aumentar la secreción de PAR-4 de células normales en ratones y los sueros de estos ratones inducen apoptosis *ex-vivo* en cultivos de células cancerosas.

Sorprendentemente, se descubrió que el agente inductor de PAR-4 promueve la secreción de PAR-4 tanto *in vitro* como *in vivo*.

30 La pironaridina se describe en Croft et al. Malar. J, 2012, 11, 270.

Narasina y su actividad biológica se describen en Miller et. al Biochem Pharmacol. 1 de mayo de 2010; 79(9): 1272-1280.

35 Adapaleno y su actividad biológica se describen en Piskin & Uzunali Therapeutics and Clinical Risk Management 2007:3(4) 621-624.

Mebendazol se describe en la patente de los Estados Unidos N.º 3.657.267 y Brugmans *et al.*, J. Am. Med. Assoc. 217, 313 (1971).

40 La mefloquina y su preparación se describieron por primera vez por Ohnmacht. *et al.* (J. Med. Chem. 1971, 14, 926) en 1971. Una descripción más detallada de la estereoquímica, la síntesis y la actividad antipalúdica de los isómeros de la mefloquina se da por Carroll y Blackwell (J. Med. Chem. 1974, 17, 210-219) en 1974.

45 Terconazol se describe en la patente de Estados Unidos n.º 4.223.036.

Tafenoquina se describe en la patente de Estados Unidos n.º 4.617.394.

Minoxidil se describe en la patente de Estados Unidos n.º 3.382.247.

50 Ácido nalidíxico se describe en la patente de Estados Unidos n.º 3.590.036.

Esparfloxacin se describe en la patente de Estados Unidos n.º 4.795.751.

55 Ácido pipemídico se describe en la patente de Estados Unidos n.º 3.887.557.

Lopinavir se describe en la patente de Estados Unidos n.º 5.914.332.

Ofloxacin se describe en la patente de Estados Unidos n.º 4.382.892.

60 También se describe en el presente documento un método para tratar a un sujeto que lo necesita con un agente inductor de PAR-4 para aumentar la apoptosis de las células cancerosas y reducir la metástasis y la proliferación y/o supervivencia de las células cancerosas.

65 La expresión "agente inductor de PAR-4" se usa en sentido amplio para incluir no sólo "agente inductor de PAR-4" en sí mismo sino también sus derivados farmacéuticamente aceptables del mismo. Los derivados farmacéuticamente

aceptables adecuados incluyen sales farmacéuticamente aceptables, solvatos farmacéuticamente aceptables, hidratos farmacéuticamente aceptables, anhídridos farmacéuticamente aceptables, enantiómeros farmacéuticamente aceptables, ésteres farmacéuticamente aceptables, isómeros farmacéuticamente aceptables, polimorfos farmacéuticamente aceptables, profármacos farmacéuticamente aceptables, tautómeros farmacéuticamente aceptables, complejos farmacéuticamente aceptables, etc. Sin embargo, los "agentes inductores de PAR-4" de la presente invención se definen en la reivindicación 1.

También se divulga un método para destruir células cancerosas, por ejemplo, induciendo apoptosis o inhibiendo la proliferación de células cancerosas, la metástasis de células cancerosas y/o la recurrencia de tumores en un sujeto que comprende administrar una cantidad eficaz de un agente a un sujeto que necesita tratamiento durante un tiempo suficiente para aumentar la secreción de respuesta a la apoptosis de la próstata 4 (PAR-4) de células normales en el sujeto, en donde el agente es un agente inductor de PAR-4 o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo y en donde el agente puede administrarse o no con un agente quimioterapéutico.

El término "quimioterapéutico" puede usarse como sinónimo de "anticancerígeno" y se usa en sentido amplio para incluir no sólo agentes interactivos con el ADN, Antimetabolitos, Agentes interactivos con tubulina, Agentes hormonales y otros tales como Asparaginasa o hidroxiurea.

El agente inductor de PAR-4 para su uso de acuerdo con las reivindicaciones comprende poner en contacto una población de células que comprende células cancerosas y células normales con una cantidad eficaz del agente durante un tiempo suficiente comprende administrar a un sujeto que lo necesita en una cantidad eficaz, por ejemplo, una cantidad suficiente para aumentar la expresión y/o el nivel de secreción de PAR-4 por encima del nivel de PAR-4 expresada, secretada o ambas, por una célula antes de la administración del agente inductor de PAR-4 mediante cualquier vía de administración adecuada. En otro aspecto, una cantidad eficaz de inducción de PAR-4 es una cantidad suficiente para aumentar la apoptosis de las células cancerosas y/o reducir la proliferación y/o reducir la metástasis de las células cancerosas en el sujeto. Preferentemente, el agente inductor de PAR-4 se administra en una cantidad que induce la apoptosis en células cancerosas.

A modo de ejemplo no limitante, una cantidad eficaz de agente inductor de PAR-4 en contacto con células puede incluir, por ejemplo, de aproximadamente 10 nM a aproximadamente 1000 µM, de aproximadamente 200 nM a aproximadamente 100 µM, de aproximadamente 150 nM a aproximadamente 75 µM, de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 40 µM, de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 35 µM, de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 30 µM, de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 25 µM.

En diversas realizaciones, una cantidad eficaz de agente inductor de PAR-4 se pone en contacto con las células durante al menos aproximadamente 2 horas, al menos aproximadamente 5 horas, al menos aproximadamente 10 horas, al menos aproximadamente 16 horas, al menos aproximadamente 18 horas, al menos aproximadamente 20 horas, al menos aproximadamente 24 horas, al menos aproximadamente 2 días, al menos aproximadamente 3 días, al menos aproximadamente 5 días, al menos aproximadamente una semana, al menos aproximadamente 2 semanas o más de 2 semanas.

A modo de ejemplo adicional no limitante, una cantidad eficaz de agente inductor de PAR-4 administrado a un sujeto que lo necesita puede incluir aproximadamente 0,1-2000 mg diarios, aproximadamente 100- 1500 mg al día, aproximadamente 150-1200 mg al día, aproximadamente 200-1200 mg al día, aproximadamente 100 mg al día, aproximadamente 200 mg al día, aproximadamente 300 mg al día, aproximadamente 400 mg al día, aproximadamente 500 mg al día, aproximadamente 750 mg al día, aproximadamente 1000 mg al día, aproximadamente 1200 mg al día o más de aproximadamente 1200 mg al día.

En diversas realizaciones, se administra una cantidad eficaz de agente inductor de PAR-4 a un sujeto que lo necesita durante 1 día, durante 2 días, durante 5 días, durante aproximadamente 1 semana, durante aproximadamente 2 semanas, durante al menos aproximadamente 1 mes, durante al menos aproximadamente 2 meses, durante al menos aproximadamente 3 meses, durante al menos aproximadamente 6 meses, durante al menos aproximadamente 8 meses, durante al menos aproximadamente 1 año o durante más de 1 año. Se entiende que la duración del tratamiento dependerá de la etapa del cáncer y de si el cáncer ha entrado en remisión.

La cantidad real abarcada por la expresión cantidad eficaz dependerá de la vía de administración, del tipo de mamífero que se está tratando y de las características físicas del sujeto específico en consideración, por ejemplo, su edad, peso, gravedad de la enfermedad, comorbilidades. Estos factores y su relación para determinar esta cantidad son bien conocidos por los profesionales expertos en la técnica médica y otras técnicas relacionadas y un experto en la materia puede determinar fácilmente la dosis eficaz apropiada de agente inductor de PAR-4 que se administrará a un sujeto a alcanzar los niveles deseados de secreción de PAR-4. Igualmente, el programa de dosificación puede determinarse fácilmente por el experto en la materia.

Preferentemente, el agente inductor de PAR-4 puede administrarse al sujeto mediante cualquier medio usado actualmente en la técnica, por ejemplo, por vía oral, por vía subcutánea, por vía transdérmica, por vía intravenosa, por

vía intramuscular, por vía parenteral, por vía rectal, por vía intranasal, por vía intratumoral, etc. Por ejemplo, el agente inductor de PAR-4 puede administrarse por vía oral al sujeto en cualquier forma farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, en forma de un comprimido, una cápsula, un jarabe o un elixir, o infundido o inyectado, por ejemplo, por una vía intraperitoneal o intravenosa o intramuscular, y en una cantidad suficiente para aumentar los niveles de PAR-4 en el sujeto, preferentemente a un nivel que sea suficiente para destruir las células cancerosas, por ejemplo, inducir apoptosis en células cancerosas y/o inhibir la proliferación y/o inhibir la metástasis. Las formas farmacéuticamente aceptables también pueden comprender uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Se conocen en la técnica vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables tales como aquellos descritos en, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985).

Preferentemente, el agente inductor de PAR-4 puede proporcionarse en forma de una composición farmacéutica tal como pero no limitado a, formas farmacéuticas unitarias incluyendo comprimidos, cápsulas (llenas de polvos, gránulos, perlas, minicompriados, píldoras, microgránulos, unidades de comprimidos pequeños, sistemas de microgránulos de múltiples unidades (MUPS), comprimidos que se desintegran, comprimidos dispersables, gránulos y microesferas, multiparticulados), sobres (llenos de polvos, gránulos, perlas, minicompriados, píldoras, microgránulos, unidades de comprimidos pequeños, MUPS, comprimidos que se desintegran, comprimidos dispersables, gránulos y microesferas, multiparticulados), polvos para reconstitución y espolvoreados, sin embargo, otras formas farmacéuticas tales como formulaciones de liberación controlada, formulaciones liofilizadas, formulaciones de liberación modificada, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación extendida, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones de liberación dual y similares. La forma farmacéutica líquida o semisólida (líquidos, suspensiones, soluciones, dispersiones, pomadas, cremas, emulsiones, microemulsiones, pulverizaciones, preparado para unción puntual y similares), preparaciones de inyección, parenteral, tópica, inhalaciones, bucal, nasal, etc. también pueden contemplarse dentro del ámbito de la invención.

Los inventores de la presente invención también han descubierto que las propiedades de solubilidad del agente inductor de PAR-4 mejoran mediante el nanotamaño, lo que conduce a una mejor biodisponibilidad y reducción de la dosis del fármaco.

En una realización, el agente inductor de PAR-4 puede estar presente en forma de nanopartículas que tienen un tamaño de partícula promedio inferior a 2000 nm.

Los excipientes adecuados pueden usarse para formular las formas farmacéuticas de acuerdo con la presente invención, tales como, pero no limitado a, estabilizadores de superficie o tensioactivos, agentes modificadores de la viscosidad, polímeros incluyendo polímeros de liberación prolongada, estabilizantes, disgregantes o súper disgregantes, diluyentes, plastificantes, aglutinantes, deslizantes, lubricantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes antiaglomerantes, opacificantes, agentes antimicrobianos, agentes antiespumantes, emulsionantes, agentes tampón, agentes colorantes, vehículos, cargas, antiadherentes, disolventes, agentes de enmascaramiento del sabor, conservantes, antioxidantes, potenciadores de textura, estabilizadores de superficie, agentes canalizadores, agentes de recubrimiento o combinaciones de los mismos.

Las células cancerosas y los cánceres que se tratan pueden ser de cualquier tipo tales como pero no limitado a Sarcoma, Carcinoma, Leucemia, Tumor de células germinales, Blastoma y Linfoma y Mieloma y/o cualquier combinación de los mismos.

En una realización de la presente invención, una célula cancerosa o un tumor se encuentra en un tejido altamente vascularizado. En el contexto de la presente invención, un tejido altamente vascularizado incluye cualquier tejido con una vascularización mejor que el promedio. Por ejemplo, sin limitación, el tejido altamente vascularizado incluye sangre, pulmón, hígado, piel o riñón.

Una célula cancerosa o un cáncer que se localiza en un tejido altamente vascularizado puede haberse originado en ese u otro tejido altamente vascularizado o puede haber viajado a un tejido altamente vascularizado desde cualquier otro tejido mediante metástasis.

Preferentemente el agente inductor de PAR-4 o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, puede o no coadministrarse con un quimioterapéutico u otros fármacos contra el cáncer.

Los agentes para su uso de acuerdo con la presente invención también pueden incluir tratamiento con agente inductor de PAR-4 y una cantidad eficaz de radiación ionizante. La radiación ionizante se ha usado en el tratamiento de una diversidad de cánceres, incluyendo melanoma (Khan *et al.* Onco Targets Ther. 2011; 4: 137-148). Una cantidad eficaz de radiación ionizante puede incluir cualquier cantidad que sea suficiente para destruir las células cancerosas, inhibir la proliferación de células cancerosas, metástasis de células cancerosas y/o recurrencia de uno o más tumores. En una realización, una cantidad eficaz es de aproximadamente 1 a 5 Gy de radiación, 2-4 Gy de radiación o aproximadamente 2 Gy, aproximadamente 3 Gy, aproximadamente 4 Gy o aproximadamente 5 Gy de radiación. Una cantidad eficaz de radiación ionizante será evidente para el experto en la materia y, en una realización preferida, es menor que la cantidad de radiación ionizante necesaria para destruir las células cancerosas, inhibir la proliferación de células cancerosas, metástasis de células cancerosas y/o recurrencia de uno o más tumores en ausencia de

tratamiento con agente inductor de PAR-4.

Puede coadministrarse una cantidad eficaz de agente inductor de PAR-4 con el tratamiento con radiación ionizante. La eficacia mejorada de la radioterapia con la administración del agente inductor de PAR-4 puede manifestarse como un aumento en la destrucción de células cancerosas, por ejemplo, apoptosis de células cancerosas, proliferación inhibida de células cancerosas o metástasis inhibida de células cancerosas, en comparación con sujetos similares que lo necesitan tratados con la misma cantidad de radiación ionizante pero sin tratamiento con agente inductor de PAR-4. La eficacia mejorada de la radioterapia con la administración del agente inductor de PAR-4 puede manifestarse alternativa o adicionalmente logrando la destrucción de células cancerosas, por ejemplo, apoptosis de células cancerosas, proliferación inhibida de células cancerosas o metástasis inhibida de células cancerosas, con cantidades reducidas de radiación ionizante de las que históricamente se requieren para lograr tales efectos contra el cáncer. Los efectos del tratamiento con el agente inductor PAR-4 y la radiación ionizante pueden ser inesperadamente más que aditivos. Un sujeto que necesita tratamiento es un sujeto que tiene cáncer, un sujeto que ha sido tratado por un cáncer y está en remisión o libre de cáncer, o un sujeto que tiene un cáncer recurrente. El cáncer puede ser cualquier cáncer, incluyendo pero no limitado a, por ejemplo, cáncer de próstata, de mama, de piel (por ejemplo, melanoma) y/o de pulmón o cualquier cáncer descrito en el presente documento. El cáncer puede ser un cáncer de próstata independiente de andrógenos, un cáncer de mama que expresa niveles bajos o nulos de PAR-4, un cáncer de mama que es altamente agresivo, tumor de alto grado (grado 3), negativo al receptor de estrógenos o de tipo basal, o un cáncer de pulmón no microcítico, un cáncer de pulmón microcítico o un tumor carcinoide de pulmón o tumores cerebrales. El cáncer puede ser un melanoma, por ejemplo, melanoma de diseminación superficial, melanoma nodular, melanoma lentigno maligno o melanoma desmoplásico. Un sujeto que necesita tratamiento también puede incluir un sujeto que necesita tratamiento profiláctico, dónde un sujeto que necesitara tratamiento profiláctico sería, por ejemplo, un sujeto que actualmente no tiene un cáncer pero que se ha determinado que tiene un mayor riesgo de desarrollar un cáncer, particularmente un cáncer de próstata, de mama, de piel o de pulmón o cualquier cáncer descrito en el presente documento, en comparación con el riesgo de la población general de desarrollar ese cáncer.

También se desvelan métodos para reducir la recurrencia de un cáncer que comprenden administrar un agente inductor de PAR-4, o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, con o sin un agente quimioterapéutico, a un sujeto que lo necesite en una cantidad suficiente para reducir la recurrencia de un cáncer en el sujeto. En los métodos descritos en el presente documento, el agente inductor de PAR-4 o el derivado farmacéuticamente aceptable del mismo puede administrarse al sujeto que lo necesite en combinación con otro agente que aumente la producción y/o la secreción de PAR-4.

También se desvela un método para reducir profilácticamente el riesgo de que un sujeto desarrolle cáncer que comprende administrar un agente inductor de PAR-4, o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, a un sujeto que lo necesita para elevar la expresión de PAR-4 de las células normales a un nivel que mejore la apoptosis de las células cancerosas.

Se entiende que los métodos desvelados en el presente documento pueden incluir una etapa de seleccionar un sujeto que lo necesite, identificando a un sujeto que tiene un cáncer o cánceres descritos en el presente documento, o que ha sido tratado para dicho cáncer o cánceres y está en remisión o libre de cáncer, o tiene un cáncer o cánceres recurrentes, o necesita tratamiento profiláctico, y después administrar una cantidad eficaz de agente inductor de PAR-4 con o sin una cantidad eficaz de otro agente anticancerígeno, o radiación ionizante, o combinaciones de los mismos, a dicho sujeto como se describe en este documento.

Los siguientes modelos y ejemplos son para el fin de ilustración de la invención y no pretenden de ninguna manera limitar el alcance de la presente invención.

Ejemplo 1. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Pironaridina

Objetivo:

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Pironaridina para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón.

Metodología:

Se recolectaron células de fibroblastos embrionarios de ratón de cultivos en fase exponencial. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, las células se trataron con 25 μ M de pironaridina seguido de 18-21 h adicionales de incubación. La inducción de PAR-4 se comprobó en el sobrenadante celular y el lisado celular sometiendo las muestras a análisis de transferencia Western con anticuerpos específicos para PAR-4 y actina. Las muestras también se sometieron a SDS/PAGE y tinción con azul de Coomassie para determinar los niveles de albúmina en suero del Medio Acondicionado (CM) como otro control de carga.

Resultados:

La pironaridina fue capaz de inducir una secreción fuerte de PAR-4 en el sobrenadante de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales de una manera dependiente de la dosis. Los resultados se representan en la Figura 1.

5 Ejemplo 2. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Terconazol:

Objetivo:

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Terconazol para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón.

Metodología:

Se recolectaron células de fibroblastos embrionarios de ratón de cultivos en fase exponencial. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, las células se trataron con 25 μ M de Terconazol seguido de 18-21 h adicionales de incubación. La inducción de PAR-4 se comprobó en el sobrenadante celular y el lisado celular sometiendo las muestras a análisis de transferencia Western con anticuerpos específicos para PAR-4 y actina. Las muestras también se sometieron a SDS/PAGE y tinción con azul de Coomassie para determinar los niveles de albúmina en suero del CM como otro control de carga.

Resultados:

El terconazol fue capaz de inducir una secreción fuerte de PAR-4 en el sobrenadante de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales de una manera dependiente de la dosis. Los resultados se representan en la Figura 2 y la Figura 3.

Ejemplo 3. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Mefloquina

Objetivo:

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Mefloquina para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón

Metodología:

Se recolectaron fibroblastos embrionarios de ratón de cultivos en fase exponencial. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, las células se trataron con 25 μ M de Mefloquina seguido de 18-21 h adicionales de incubación.

La inducción de PAR-4 se comprobó en el sobrenadante celular y el lisado celular sometiendo las muestras a análisis de transferencia Western con anticuerpos específicos para PAR-4 y actina. Las muestras también se sometieron a SDS/PAGE y tinción con azul de Coomassie para determinar los niveles de albúmina en suero del sobrenadante celular como otro control de carga. También se comprobó la inducción dependiente de la dosis de PAR-4 por Mefloquina en células de fibroblastos embrionarios de ratón.

Resultados:

La Mefloquina fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 4.

Ejemplo 4. Inducción de PAR-4 *in vivo* por Mefloquina

Objetivo:

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Mefloquina para inducir la secreción sistémica de PAR-4 en ratones C57BL6.

Metodología:

A ratones inmunocompetentes se les administró por vía oral 10 mg/kg y 51,2 mg/kg de peso corporal de mefloquina o vehículo durante 3 días consecutivos seguido de una extracción de sangre 24 h después, separación de suero y pruebas de niveles sistémicos de PAR-4.

Resultados:

Con respecto al tratamiento con vehículo, Mefloquina indujo una fuerte elevación de PAR-4 en suero de ratón y

51,2 mg/kg. Los resultados se representan en la Figura 5.

Ejemplo 5. Inducción de GRP-78 *in vitro* por Mefloquina

5 Objetivo

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Mefloquina para inducir la expresión de GRP-78 en líneas celulares de cáncer de ovario y cáncer renal humanos.

10 Metodología

La línea celular de cáncer de ovario humano SKOV-3 y la línea celular de cáncer renal 786-O se recolectaron de cultivos en fase exponencial. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, las células se trataron con 25 µM de Mefloquina seguido de 18-21 h adicionales de incubación. La inducción de la expresión de GRP-78 se comprobó en el lisado celular sometiendo las muestras a análisis de transferencia Western con anticuerpos específicos para GRP-78.

Resultados

20 Mefloquina indujo la expresión de GRP-78 tanto en SKOV-3 como en 786-O a la concentración de prueba de 25 µM. Los resultados se representan en la Figura 6.

Ejemplo 6. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Narasina

25 Objetivo:

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Narasina para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón.

30 Metodología:

Se recolectaron células de fibroblastos embrionarios de ratón de cultivos en fase exponencial. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, las células se trataron con 25 µM de Narasina seguido de 18-21 h adicionales de incubación. La inducción de PAR-4 se comprobó en el sobrenadante celular y el lisado celular sometiendo las muestras a análisis de transferencia Western con anticuerpos específicos para PAR-4 y actina. Las muestras también se sometieron a SDS/PAGE y tinción con azul de Coomassie para determinar los niveles de albúmina en suero del CM como otro control de carga.

Resultados:

40 La Narasina fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 7.

Ejemplo 7. Inducción de PAR-4 *in vivo* por Narasina

45 Objetivo:

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Narasina para inducir la secreción sistémica de PAR-4 en ratones C57BL6.

50 Metodología:

A ratones inmunocompetentes se les administró por vía oral 1,5 mg/kg de peso corporal de Narasina o vehículo durante 3 días consecutivos seguido de una extracción de sangre 24 h después, separación de suero y pruebas de niveles sistémicos de PAR-4.

Resultados:

60 Con respecto al tratamiento con vehículo, Narasina indujo una fuerte elevación de PAR-4 en suero de ratones. Los resultados se representan en la Figura 8.

Ejemplo 8. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Mebendazol

65 Objetivo:

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Mebendazol para inducir la secreción de PAR-4 en

células de fibroblasto embrionario de ratón

Metodología:

- 5 Se recolectaron fibroblastos embrionarios de ratón de cultivos en fase exponencial. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, las células se trataron con 25 μ M de Mebendazol seguido de 18-21 h adicionales de incubación. La inducción de PAR-4 se comprobó en el sobrenadante celular y el lisado celular sometiendo las muestras a análisis de transferencia Western con anticuerpos específicos para PAR-4 y actina. Las muestras también se sometieron a SDS/PAGE y tinción con azul de Coomassie para determinar los niveles de albúmina en suero del sobrenadante celular como otro control de carga. También se comprobó la inducción dependiente de la dosis de PAR-4 por Mebendazol en células de fibroblastos embrionarios de ratón.

Resultados:

- 15 El Mebendazol fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 9.

20 **Ejemplo 9. Inducción de GRP-78 *in vitro* por Mebendazol**

Objetivo:

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Mebendazol para inducir la expresión de GRP-78 en líneas celulares de cáncer de ovario y cáncer renal humanos.

25 Metodología:

- La línea celular de cáncer de ovario humano SKOV-3 y la línea celular de cáncer renal 786-O se recolectaron de cultivos en fase exponencial. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, las células se trataron con 25 μ M de Mebendazol seguido de 18-21 h adicionales de incubación. La inducción de la expresión de GRP-78 se comprobó en el lisado celular sometiendo las muestras a análisis de transferencia Western con anticuerpos específicos para GRP-78.

Resultados:

- 35 El Mebendazol indujo la expresión de GRP-78 tanto en SKOV-3 como en 786-O a la concentración de prueba de 25 μ M. Los resultados se representan en la Figura 10.

40 **Ejemplo 10. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Tafenoquina**

Objetivo

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Tafenoquina para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón

45 Metodología:

- Se recolectaron fibroblastos embrionarios de ratón de cultivos en fase exponencial. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, las células se trataron con 25 μ M de Tafenoquina seguido de 18-21 h adicionales de incubación. La inducción de PAR-4 se comprobó en el sobrenadante celular y el lisado celular sometiendo las muestras a análisis de transferencia Western con anticuerpos específicos para PAR-4 y actina. Las muestras también se sometieron a SDS/PAGE y tinción con azul de Coomassie para determinar los niveles de albúmina en suero del sobrenadante celular como otro control de carga. También se comprobó la inducción dependiente de la dosis de PAR-4 por Tafenoquina en células de fibroblastos embrionarios de ratón.

Resultados:

- 60 La Tafenoquina fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 11 y 12

Ejemplo 11. Inducción de GRP-78 *in vitro* por Tafenoquina

Objetivo

El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Tafenoquina para inducir la expresión de GRP-78 en

líneas celulares de cáncer de ovario y cáncer renal humanos.

Metodología

5 La línea celular de cáncer de ovario humano SKOV-3 y la línea celular de cáncer renal 786-O se recolectaron de cultivos en fase exponencial. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, las células se trataron con 25 μ M de Tafenoquina seguido de

10 18-21 h de incubación. La inducción de la expresión de GRP-78 se comprobó en el lisado celular sometiendo las muestras a análisis de transferencia Western con anticuerpos específicos para GRP-78.

Resultados

15 La Tafenoquina indujo la expresión de GRP-78 tanto en SKOV-3 como en 786-O a la concentración de prueba de 25 μ M. Los resultados se representan en la Figura 13

Ejemplo 12. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Minoxidil

Objetivo:

20 El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Minoxidil para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón.

25 Metodología: El experimento se realizó según el método establecido en el Ejemplo 1.

Resultados:

30 El Minoxidil fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 14.

Ejemplo 13. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Ácido nalidíxico

Objetivo:

35 El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Ácido nalidíxico para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón.

Metodología: El experimento se realizó según el método establecido en el Ejemplo 1.

Resultados

40 El Ácido nalidíxico fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 15

Ejemplo 14. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Esparfloxacino

Objetivo:

50 El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Esparfloxacino para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón.

Metodología: El experimento se realizó según el método establecido en el Ejemplo 1.

Resultados

55 El Esparfloxacino fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 16.

Ejemplo 15. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Ácido pipemídico

Objetivo:

60 El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de ácido pipemídico para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón.

65 Metodología: El experimento se realizó según el método establecido en el Ejemplo 1.

Resultados

5 El Ácido pipemídico fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 17.

Ejemplo 16. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Lopinavir

Objetivo:

10 El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Lopinavir para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón.

15 Metodología: El experimento se realizó según el método establecido en el Ejemplo 1.

Resultados

20 El Lopinavir fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 18.

Ejemplo 17. Inducción de PAR-4 *in vitro* por Ofloxacino

Objetivo:

25 El objetivo del presente estudio fue comprobar la capacidad de Ofloxacino para inducir la secreción de PAR-4 en células de fibroblasto embrionario de ratón.

Metodología: El experimento se realizó según el método establecido en el Ejemplo 1.

30 Resultados

El Ofloxacino fue capaz de inducir una secreción intensa de PAR-4 en el sobrenadante celular de células de fibroblastos embrionarios de ratón normales. Los resultados se representan en la Figura 19.

REIVINDICACIONES

1. Un agente para su uso en el tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesita poniendo en contacto una población de células que comprende células cancerosas y células normales con una cantidad eficaz del agente que se selecciona de un grupo que consiste en: mebendazol, pironaridina, tafenoquina, minoxidil, ácido nalidíxico, esparfloxacino, ácido pipemídico y ofloxacino.
2. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la cantidad eficaz de agente está en el intervalo de 10 nM a 1000 µM.
3. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la cantidad eficaz de agente está en el intervalo de 100 nM a 25 µM.
4. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la cantidad eficaz de agente está en el intervalo de 0,1 mg a 2000 mg al día.
5. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente se pone en contacto con la población de células que comprende células cancerosas y células normales durante al menos aproximadamente 2 horas.
6. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la célula cancerosa es deficiente en p53.
7. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente está en forma de comprimido, cápsula, jarabe, elixir, infusión o inyección.
8. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente está en forma de nanopartículas con un tamaño de partícula promedio de menos de 2000 nm.
9. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde las células cancerosas son célula cancerosa de sarcoma, de carcinoma, de leucemia, de tumor de células germinales, de blastoma, de linfoma, de mieloma o cualquier combinación de las mismas.
10. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la célula cancerosa está situada en un tejido vascularizado.
11. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente se administra en combinación con al menos una terapia contra el cáncer adicional.
12. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la al menos una terapia contra el cáncer adicional comprende:
 - (i) administración de un agente quimioterapéutico;
 - (ii) radiación ionizante; o
 - (iii) administración de un agente inductor de PAR-4 adicional.
13. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el cáncer es cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de pulmón o cualquier combinación de los mismos.

Figura 1: Inducción dependiente de la dosis de PAR-4 por Pironaridina en células de fibroblasto embrionario de ratón

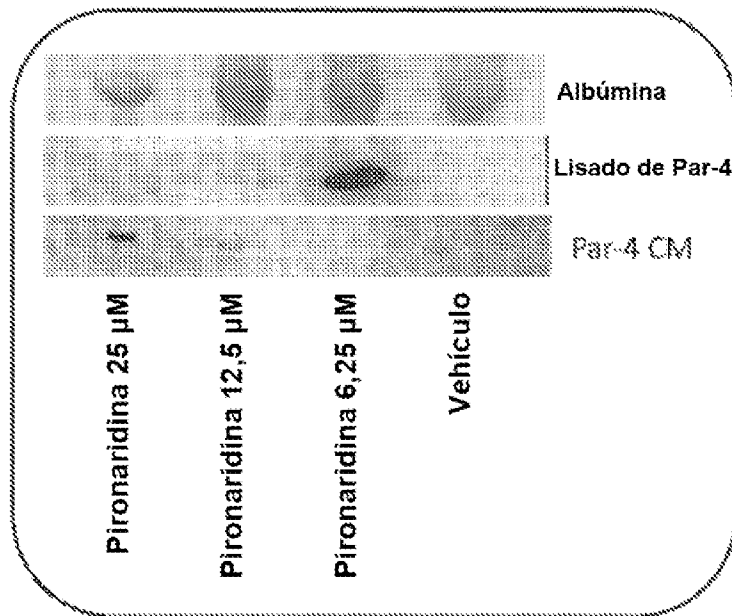


Figura 2: Inducción dependiente de la dosis de PAR-4 por Terconazol en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

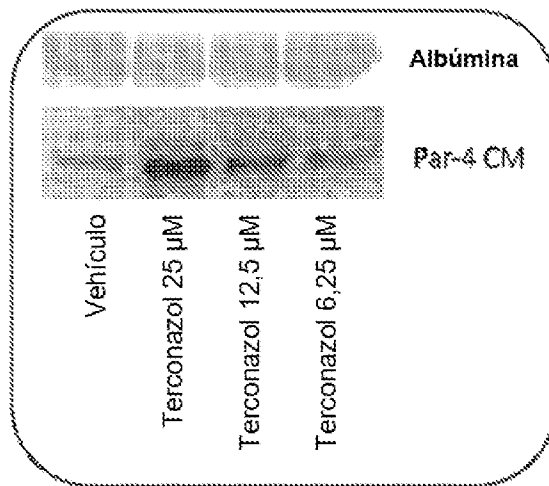


Figura 3: Inducción de PAR-4 por Terconazol en lisado celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

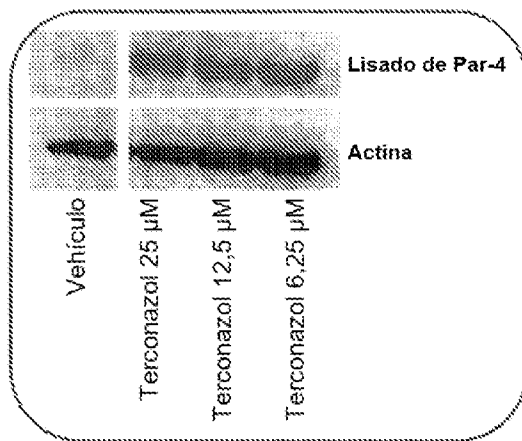


Figura 4: Inducción de PAR-4 por Mefloquina en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

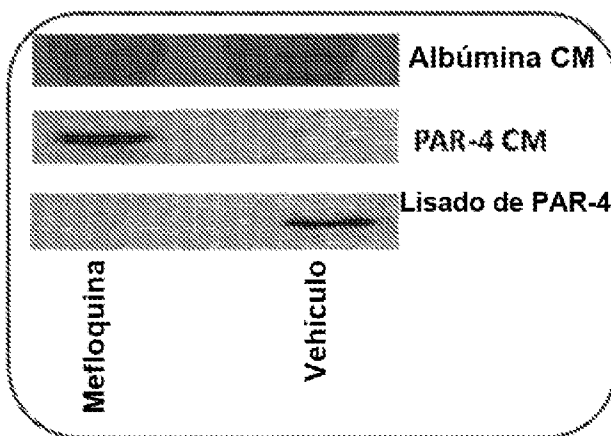


Figura 5: Con respecto al tratamiento con vehículo, la Mefloquina indujo elevación robusta de PAR-4 en ratón a 51,2 mg/kg

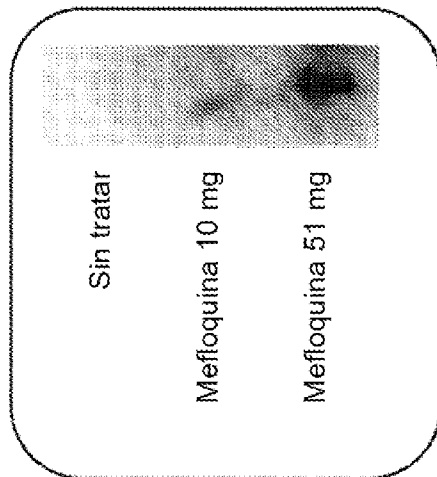


Figura 6: Inducción de GRP-78 por Mefloquina en líneas celulares de cáncer de ovario y renal humanos

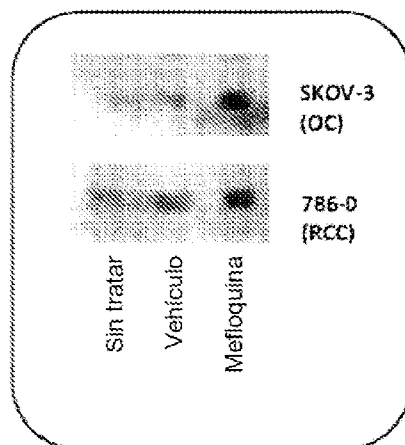


Figura 7: Inducción de PAR-4 por Narasina en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

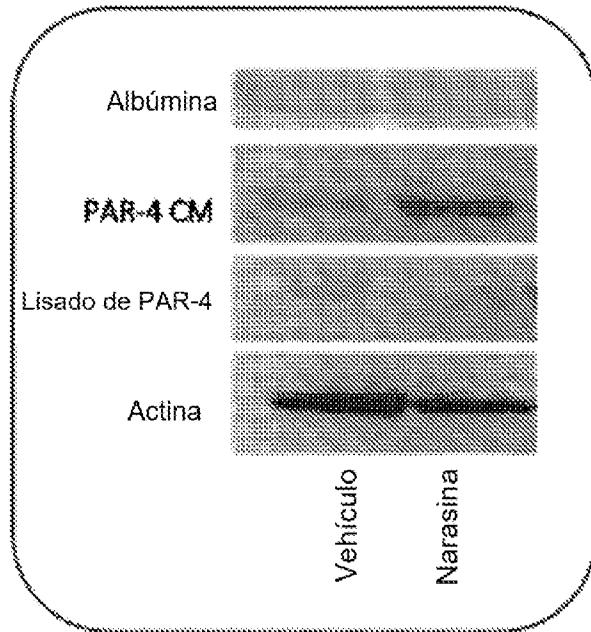


Figura 8: Con respecto al tratamiento con vehículo, la Narasina indujo elevación robusta de PAR-4 en ratón a 1,5 mg/kg

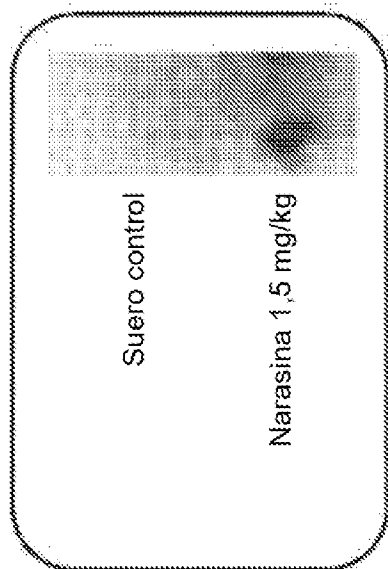


Figura 9: Inducción de PAR-4 por Mebendazol en sobrenadante y lisado celulares de células de fibroblasto embrionario de ratón

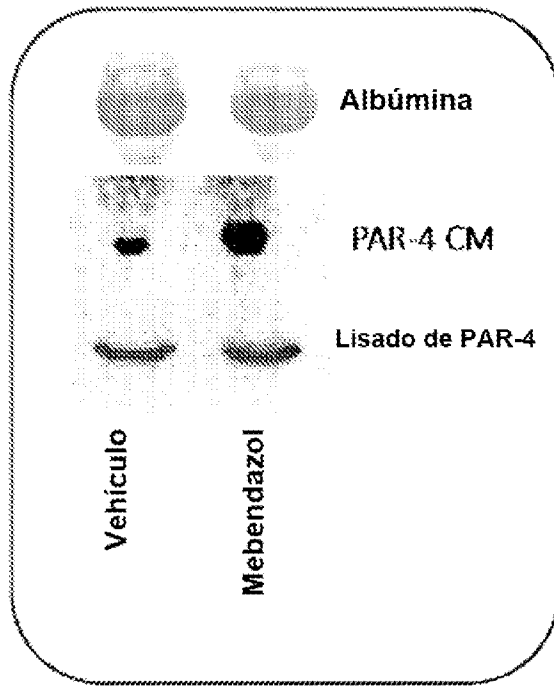


Figura 10: Inducción de GRP-78 por Mebendazol en líneas celulares de cáncer de ovario y renal humanos

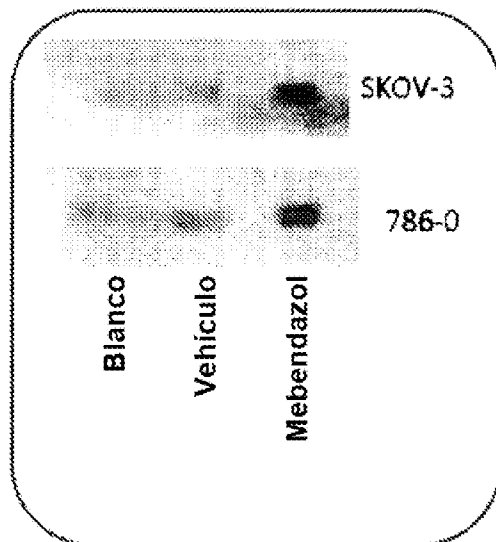


Figura 11: Inducción de PAR-4 por Tafenoquina en sobrenadante y lisado celulares de células de fibroblasto embrionario de ratón

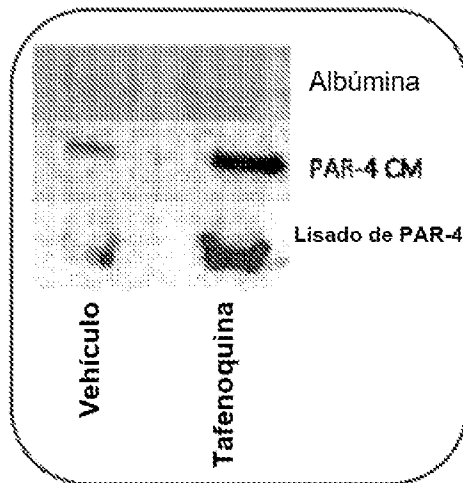


Figura 12: Inducción dependiente de la dosis de PAR-4 por Tafenoquina en sobrenadante y lisado celulares de células de fibroblasto embrionario de ratón

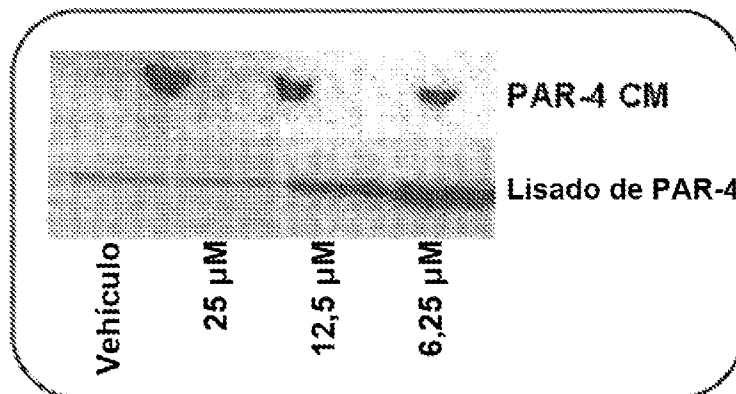


Figura 13: Inducción de GRP-78 por Tafenoquina en líneas celulares de cáncer de ovario y renal humanos

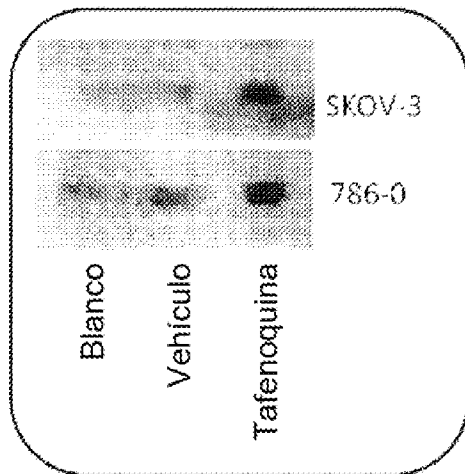


Figura 14: Inducción de PAR-4 por Minoxidil en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

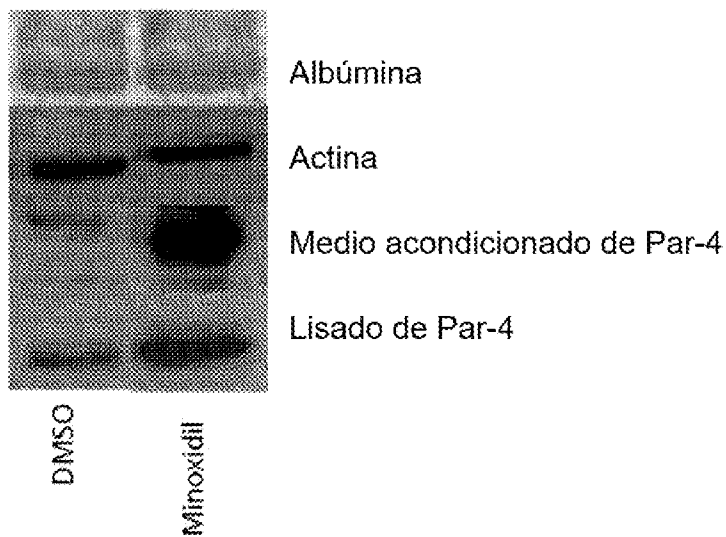


Figura 15: Inducción de PAR-4 por Ácido nalidíxico en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

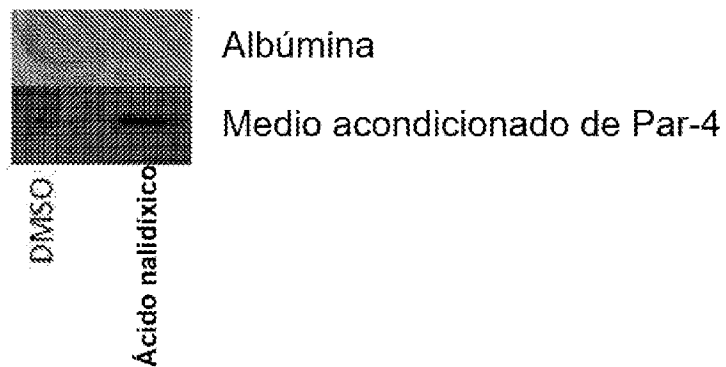


Figura 16: Inducción de PAR-4 por esparfloxacino en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

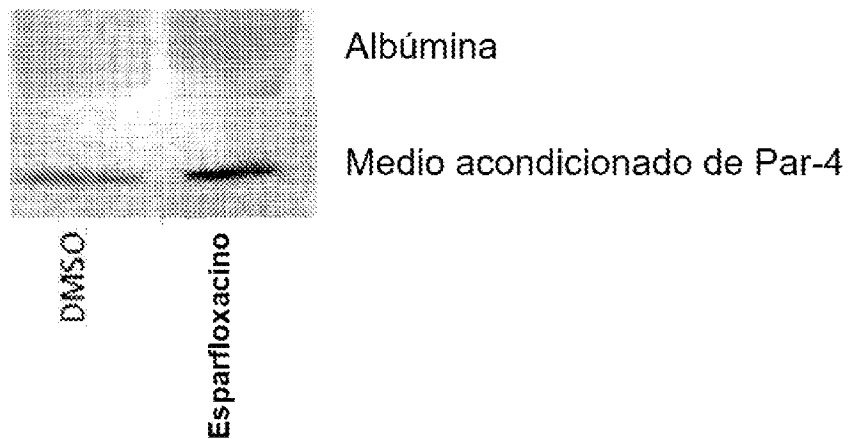


Figura 17: Inducción de PAR-4 por Ácido pipemídico en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

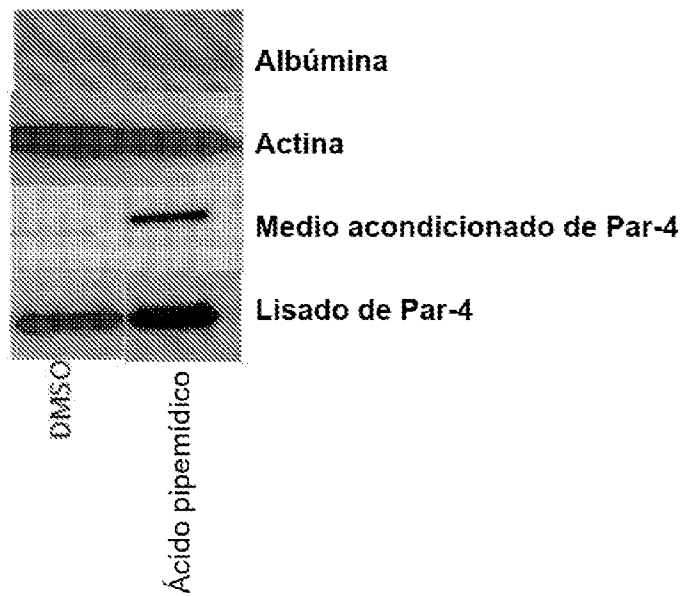


Figura 18: Inducción de PAR-4 por Lopinavir en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

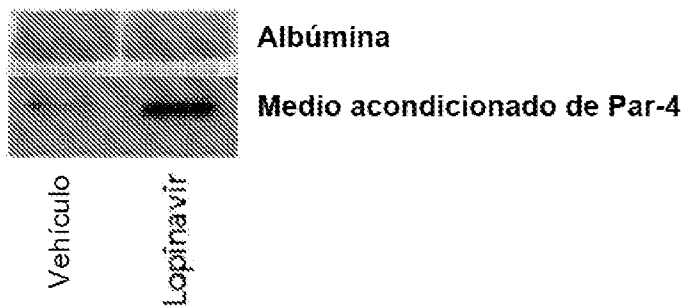


Figura 19: Inducción de PAR-4 por Ofloxacino en sobrenadante celular de células de fibroblasto embrionario de ratón

