(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 403 006**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/497 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61K 31/415 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.08.2006** **E 06802186 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.01.2013** **EP 1919480**

(54) Título: **Antagonistas de la vía Hedgehog para tratar enfermedades**

(30) Prioridad:

22.08.2005 US 710117 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.05.2013

(73) Titular/es:

THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY (100.0%)
3400 N. CHARLES STREET
BALTIMORE, MD 21218, US

(72) Inventor/es:

BEACHY, PHILIP ARDEN y
LIU, JUN

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 403 006 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

Antagonistas de la vía Hedgehog para tratar enfermedades

Antecedentes de la invención

La vía de señalización Hedgehog (Hh) es importante en el desarrollo de los animales, y ha estado muy conservada a través de la evolución. Además, la señalización de Hh aberrante se ha asociado con el desarrollo y el crecimiento de muchos cánceres humanos. Como resultado, la vía de señalización Hh ha sido una diana en los intentos de investigación y desarrollo de compañías biotecnológicas y farmacéuticas para desarrollar nuevos tratamientos no tóxicos contra el cáncer. Sin embargo, a pesar de la escala masiva de los recursos dedicados a este enfoque, no se ha conseguido un antagonista de la vía Hh que pueda ensayarse clínicamente para su uso en terapia contra el cáncer. Por tanto, sigue existiendo la necesidad de identificar y desarrollar fármacos que actúen como antagonistas de la vía Hh.

En primer lugar, la identificación de fármacos establecidos que también actúen como antagonistas de la vía Hh, y después el uso de sus perfiles de toxicidad ya establecidos facilitaría la identificación de antagonistas Hh, y cubriría más rápidamente el vacío entre el laboratorio y la clínica. Por tanto, la presente invención cubre la necesidad en la técnica de antagonistas de la vía Hh proporcionando la identificación de fármacos con perfiles de toxicidad y farmacocinética ya establecidos que puedan usarse como compuestos para inhibir la actividad de la vía Hh, y para tratar un trastorno o una enfermedad asociados con la señalización Hh aberrante, tal como cáncer.

La técnica previa relevante en el campo de la presente tecnología es, entre otras cosas:

El documento US 6.552.026 se refiere al uso de derivados de aminoprolina que interfieren con las características de la actividad de transducción de señales de hedgehog, pct o smoothened. Más específicamente, se considera que los derivados de aminoprolina agonizan la inhibición de la señalización hedgehog mediante pct.

El documento WO 02/44344 se refiere a cultivos de carcinoma de células basales, a composiciones y procedimientos para los mismos, en los que se usan ciclopamina, triparanol, jervina, tomatidina y colesterol como antagonistas de hedgehog.

El documento US 6.432.970 se refiere al uso de ensayos y reactivos que inhiben las señales paracrinas y/o autocrinas producidas por una proteína hedgehog. Se usan ciclopamina, triparanol, jervina, tomatidina y colesterol como antagonistas de hedgehog.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a salinomicina sódica o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso en la inhibición de la actividad de la vía Hedgehog relacionada con cáncer en un sujeto. La invención se refiere adicionalmente a salinomicina sódica o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, opcionalmente en combinación con una segunda forma de terapia, para su uso en el tratamiento de un trastorno relacionado con una enfermedad mediada por la vía Hedgehog seleccionada de cáncer en un sujeto y en el que el sujeto es un mamífero incluyendo un ser humano.

La invención también se refiere a salinomicina sódica o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en la inhibición de la actividad de la vía Hedgehog relacionada con cáncer en las células.

Además, la invención se refiere a un kit que comprende salinomicina sódica en forma de dosificación unitaria para su uso en el tratamiento de una enfermedad mediada por la vía Hedgehog relacionada con cáncer.

La invención también facilita un procedimiento para inhibir la actividad de la vía Hedgehog en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz de un antagonista de hedgehog o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, al sujeto, inhibiendo de este modo la actividad de la vía Hedgehog en el sujeto. Los presentes compuestos de la invención pueden formularse en forma de preparación farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención tiene aplicaciones terapéuticas y cosméticas que varían desde la regulación de tejidos neurales, la formación y reparación de huesos y cartílagos, la regulación de la espermatogénesis, la regulación del músculo liso, la regulación de los pulmones, el hígado y otros órganos que surgen del intestino primitivo, la regulación de la función hematopoyética, la regulación del crecimiento cutáneo y capilar, etc. Además, los presentes procedimientos pueden realizarse en células que se proporcionan en cultivo (*in vitro*) o en células en un animal completo (*in vivo*). Véanse, por ejemplo, las publicaciones PCT WO 95/18856 y WO 96117924. Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción detallada, y a partir de las reivindicaciones.

En un aspecto, la invención proporciona un procedimiento para inhibir la actividad de la vía Hedgehog en un sujeto. El procedimiento facilita administrar al sujeto una cantidad eficaz de un antagonista de Hedgehog seleccionado entre los compuestos de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, inhibiendo de este modo la actividad de la vía Hedgehog en el sujeto.

En ciertas realizaciones, el antagonista de hedgehog se selecciona entre el grupo que consiste en: itraconazol, sulfisomadina, resina podophyllum, colchicina, y colchiceína. En ciertas realizaciones, el sujeto padece, o es susceptible a, un trastorno relacionado con la actividad de la vía Hh.

En otro aspecto, la invención facilita un procedimiento para tratar un trastorno relacionado con la actividad de la vía Hedgehog en un sujeto. La invención por tanto permite las etapas de (a) identificar un sujeto en necesidad de tratamiento para un trastorno relacionado con la señalización Hh; y (b) administrar al sujeto un compuesto seleccionado entre los compuestos de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del los mismos, tratando de este modo un trastorno relacionado con la actividad de la vía Hedgehog en el sujeto.

La invención facilita la administración del compuesto, que incluye administrar el compuesto en una composición farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, el procedimiento incluye la etapa adicional de (c) controlar al sujeto para determinar la eficacia del tratamiento. En ciertas realizaciones, la etapa de control implica detectar el tamaño del tumor, y una disminución en el tamaño del tumor es indicativa de tratamiento. En ciertas realizaciones, el control implica comparar el nivel de antígeno específico prostático (PSA) en una muestra de suero después del tratamiento con el nivel de antígeno específico prostático antes del tratamiento. En ciertas realizaciones, el trastorno relacionado con la actividad de la vía Hedgehog es cáncer, psoriasis o hirsutismo. En ciertas realizaciones, el trastorno es cáncer y el cáncer es un carcinoma endodérmico. En ciertas realizaciones, el trastorno es cáncer y el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en: cáncer de próstata, cáncer de próstata metastásico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, carcinomas del esófago, estómago, páncreas, tracto biliar, próstata o vejiga, carcinoma de células basales, meduloblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de mama y cáncer de ovario.

En otro aspecto, la invención facilita un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto en necesidad de dicho tratamiento, comprendiendo el procedimiento administrar al sujeto una cantidad eficaz de itraconazol, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de modo que se trate el cáncer.

En ciertas realizaciones, el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en: cáncer de próstata, cáncer de próstata metastásico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, carcinomas del esófago, estómago, páncreas, tracto biliar, próstata o vejiga, carcinoma de células basales, meduloblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de mama y cáncer de ovario. En ciertas realizaciones, el cáncer es cáncer de próstata, y el cáncer de próstata es cáncer de próstata metastásico.

En otro aspecto, la invención facilita un procedimiento para tratar un trastorno de la señalización de hedgehog aberrante en un sujeto que padece, o es susceptible a, un trastorno de señalización de hedgehog aberrante. El procedimiento incluye la etapa de administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de itraconazol, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de modo que se trate el trastorno de señalización de hedgehog aberrante.

En otro aspecto, la invención facilita un procedimiento para disminuir la actividad de la vía Hedgehog en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto en necesidad de dicho tratamiento una cantidad eficaz de un antagonista de hedgehog seleccionado entre los compuestos de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En otra realización, la invención facilita un procedimiento para disminuir la actividad de la vía Hedgehog en un sujeto. El procedimiento incluye la etapa de administrar a un sujeto en necesidad de dicho tratamiento una cantidad eficaz de un antagonista de hedgehog seleccionado entre los compuestos de la Tabla 1 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en combinación con una segunda forma de terapia. En ciertas realizaciones, la segunda forma de terapia se selecciona entre el grupo que consiste en: terapia antiandrógenos, radioterapia, intervención quirúrgica o quimioterapia antineoplásica.

En otro aspecto, la invención facilita un procedimiento para tratar el cáncer de próstata en un sujeto. El procedimiento incluye la etapa de administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de itraconazol, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tratando de este modo el cáncer de próstata en el sujeto.

En ciertas realizaciones, el cáncer de próstata es cáncer de próstata metastásico.

En otro aspecto, la invención facilita un procedimiento para tratar una afección asociada con la actividad de la vía Hedgehog en un sujeto. El procedimiento incluye la etapa de administrar al sujeto una cantidad eficaz de un antagonista de hedgehog seleccionado entre los compuestos enumerados en la Tabla 1, de modo que se trate la afección asociada con la actividad de la vía Hedgehog.

En ciertas realizaciones de los aspectos anteriores, el sujeto es un mamífero. En ciertas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

En ciertas realizaciones de los aspectos anteriores, la cantidad eficaz de un antagonista de hedgehog seleccionado entre los compuestos de la Tabla 1 se administra al sujeto a un intervalo de 0,0001 a 140 mg por kilogramo de peso corporal por día. En ciertas realizaciones, el compuesto se administra al sujeto por el procedimiento seleccionado entre el grupo que consiste en: oral, tópico, parenteral y sistémico.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para inhibir la actividad de señalización hedgehog en una célula. El procedimiento incluye la etapa de poner en contacto la célula (por ejemplo, administrando a la célula) con una cantidad eficaz de uno cualquiera de los compuestos de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, inhibiendo de este modo la actividad de señalización de hedgehog en la célula.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para inhibir la actividad de la vía Hedgehog en una célula. El procedimiento incluye la etapa de administrar una cantidad eficaz de un compuesto seleccionado entre los compuestos de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, a la célula (poniendo en contacto la célula con el compuesto), inhibiendo de este modo la actividad de la vía Hedgehog en la célula.

En ciertas realizaciones de los aspectos anteriores, la célula es una célula de mamífero, más preferentemente una célula humana.

En otro aspecto más, la invención proporciona un kit. El kit incluye un compuesto antagonista de hedgehog seleccionado entre los compuestos de la Tabla 1 en forma de dosificación unitaria, junto con instrucciones para el uso del compuesto para tratar una afección relacionada con la actividad de la vía Hedgehog.

Definiciones

La expresión "señalización aberrante" pretende hacer referencia a una actividad receptora anormal en una célula, con relación a la actividad receptora en una célula normal en condiciones similares. Por ejemplo, una actividad anormal puede ser niveles excesivos o indeseados de la actividad de la vía Hedgehog en una célula, por ejemplo una célula maligna, en comparación con una célula no maligna.

El término "carcinoma" se refiere a un nuevo crecimiento maligno compuesto por células epiteliales que tienden a infiltrarse en tejidos adyacentes y dan lugar a metástasis. Carcinomas ejemplares incluyen: "carcinoma de células basales", que es un tumor epitelial de la piel que, aunque raramente metastatiza, tiene potencial de invasión local y destrucción; "carcinoma de próstata", que se refiere a carcinomas que surgen a partir de adenocarcinomas que se desarrollan en los acinos de los conductos prostáticos y tiene un elevado potencial metastásico; "carcinoma de próstata metastásico", que se refiere a un carcinoma de próstata que se ha propagado, de forma contigua o mediante el sistema linfático, los vasos sanguíneos o el sistema venoso vertebral, a tejidos fuera de la próstata, por ejemplo, los huesos, el hígado, y/o los pulmones; "carcinoma de células escamosas", que se refiere a carcinomas que surgen a partir de epitelio escamoso y que tienen células cuboides; "carcinosarcoma", que incluye tumores malignos compuestos de tejidos carcinomatosos y sarcomatosos; "carcinoma adenoquístico", carcinoma marcado por cilindros o bandas de estroma hialino o mucinoso separado o rodeado por nidos o cuerdas de células epiteliales pequeñas, que existen en las glándulas mamarias y salivares, y las glándulas mucosas del tracto respiratorio; "carcinoma epidermoide", que se refiere a células cancerosas que tienden a diferenciarse del mismo modo que aquellas de la epidermis; es decir, tienden a formar células espinosas y experimentan cornificación; "carcinoma nasofaríngeo", que se refiere a un tumor maligno que surge en el revestimiento epitelial del espacio por detrás de la nariz; y "carcinoma de células renales", que pertenece al carcinoma del parenquima renal compuesto de células tubulares en disposiciones variables. Otros crecimientos epiteliales carcinomatosos son "papilomas", que se refiere a tumores benignos derivados del epitelio y que tienen un papilomavirus como agente causante; y "epidermoidomas", que se refiere a un tumor cerebral o meníngeo formado por inclusión de elementos ectodérmicos en el momento del cierre del surco neural.

Por el término "disminución" se entiende inhibir, suprimir, atenuar, disminuir, detener o estabilizar la actividad de la vía Hh.

Por "trastorno de la señalización Hh" se entiende un trastorno asociado con niveles excesivos o indeseados de la actividad de la vía Hedgehog, por ejemplo, actividad aberrante de la señalización Hh. En ciertas realizaciones, el trastorno de la actividad aberrante de la vía Hh es un trastorno de hiperproliferación, por ejemplo, cáncer o psoriasis. En otras realizaciones, el trastorno de actividad aberrante de la señalización Hh no es cáncer.

Se entiende que la expresión "ensayo de la actividad de hedgehog" se refiere a un ensayo *in vitro* o *in vivo* para determinar la capacidad de un compuesto de ensayo para modular (por ejemplo, inhibir) la actividad de la vía Hedgehog.

Se entiende que la expresión "antagonista de hedgehog" se refiere un agente que reducirá la actividad de smoothened, y que reducirá la actividad de las dianas de la vía Hh, patched y Gli1. Cuando la vía Hh está activa, la trascripción de los genes diana es mayor, cuando la vía Hh está inactiva, la trascripción de los genes diana es menor. Pueden usarse antagonistas preferidos de hedgehog para superar una pérdida de función de ptc y/o un aumento de función de smoothened, mencionándose también estos últimos como antagonistas de smoothened. La expresión "antagonista de hedgehog" como se usa en el presente documento se refiere no solamente a cualquier agente que pueda actuar inhibiendo directamente la función normal de la proteína hedgehog, sino también a cualquier agente que inhiba la actividad de la vía Hedgehog, y por tanto recapitule la función de ptc.

La expresión "actividad de la vía Hedgehog" como se usa en el presente documento se refiere a la actividad de una vía de señalización que activa el polipéptido hedgehog (Hh) o el fragmento N-terminal del polipéptido Hh (Hh-N) que

es de aproximadamente 19 kD. El polipéptido Hh o el polipéptido Hh-N pueden derivar de diversas especies incluyendo, sin limitación, *Drosophila*, pez cebra, *Xenopus*, pollo, especies murinas o seres humanos. El polipéptido Hh puede ser, por ejemplo, el polipéptido Sonic hedgehog (Shh), el polipéptido Indian hedgehog (Ihh), Desert hedgehog (Dhh) o sus fragmentos aminoterminales, Shh-N, Ihh-N, y Dhh-N, respectivamente (véase, Porter y col., Nature 374:363, 1995; Porter y col., Science 274:255, 1996, incorporados en el presente documento por referencia). Por consiguiente, la vía de señalización mediada por Hh puede ser la vía de señalización mediada por Shh, la vía de señalización mediada por Ihh, la vía de señalización mediada por Dhh, la vía de señalización mediada por Shh-N, la vía de señalización mediada por Ihh-N, la vía de señalización mediada por Dhh-N. El HhN producido de forma endógena se encuentra predominantemente en forma modificada dualmente con lípidos, con restos de palmitato y colesterilo unidos covalentemente en los extremos N y C respectivamente (Mann y Beachy, Ann Review Biochem. 2004). La vía de señalización mediada por Hh puede incluir una o más moléculas tales como polipéptidos y/o ácidos nucleicos. Las moléculas en la vía de señalización pueden alterarse de varios modos en respuesta al polipéptido Hh. Por ejemplo, las moléculas pueden fosforilarse o desfosforilarse. Las moléculas también pueden experimentar cambios conformacionales y/o unirse a otras moléculas. Por tanto, puede generarse una diversidad de señales debido a la presencia del polipéptido Hh. Los polipéptidos implicados en la vía de señalización mediada por Hh pueden incluir, sin limitación, quinasas, fosfatasas, y polipéptidos que interaccionan con secuencias de ácido nucleico (por ejemplo, factores de trascripción). Las moléculas de ácido nucleico implicadas en la vía de señalización mediada por Hh pueden incluir, por ejemplo, moléculas de ácido nucleico de unión a polipéptidos. La vía de señalización hedgehog puede ser cualquier especie de la vía de señalización hedgehog, incluyendo, la vía de señalización hedgehog de *Drosophila*, pez cebra, *Xenopus*, pollo, especies murinas o seres humanos. La vía de señalización hedgehog puede ser una vía de señalización hedgehog de vertebrados, y más específicamente, una vía de señalización hedgehog humana. Los factores de transcripción asociados con la señalización hedgehog se describen en la patente de Estados Unidos Nº 6.733.971, que se incorpora en el presente documento por referencia.

El término "inhiben" o "inhibe" indica reducir, suprimir, atenuar, disminuir, detener o estabilizar el desarrollo o progreso de una enfermedad o trastorno, o la actividad de una vía biológica, por ejemplo, en al menos un 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 98, ó 99 % en comparación con un sujeto, célula o vía biológica de control no tratada.

El término "CI_{50}" significa la dosis de un fármaco que es la mitad de la concentración máxima inhibidora.

El término "neoplasia" significa cualquier enfermedad producida por o resultado de niveles inapropiadamente elevados de división celular, niveles inapropiadamente bajos de apóptosis, o ambos. Por ejemplo, el cáncer es un ejemplo de una neoplasia. Los ejemplos de cánceres incluyen, sin limitación, leucemias (por ejemplo leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda, leucemia mieloblástica aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia monocítica aguda, eritroleucemia aguda, leucemia crónica, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfocítica crónica), policitemia vera, linfoma (enfermedad de Hodgkin, enfermedad no Hodgkin), macroglobulinemia de Waldenstrom, enfermedad de la cadena pesada, y tumores sólidos tales como sarcomas y carcinomas (por ejemplo, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiosarcoma, rabdomiosarcoma, carcinoma de colon, cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilm, cáncer cervical, cáncer uterino, cáncer testicular, carcinoma pulmonar, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico oligodendroglioma, schwannoma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, y retinoblastoma). Los trastornos linfoproliferativos también se consideran enfermedades proliferativas.

El término "sujeto" se refiere a seres humanos o a animales no humanos, normalmente animales mamíferos, tales como primates (seres humanos, simios, gibones, chimpancés, orangutanes, macacos), animales domésticos (perros y gatos), animales de granja (caballos, vacas, cabras, ovejas, cerdos) y animales de laboratorio (ratones, ratas, conejos, cobayas). Los sujetos incluyen modelos de enfermedad animal (por ejemplo, ratones que albergan tumores).

Las expresiones "administración parenteral" y "administrado por vía parenteral", como se usan en el presente documento, indican modos de administración diferentes de administración enteral y tópica, habitualmente por inyección, e incluyen, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal.

Como se usa en el presente documento, "proliferante" y "proliferación" se refieren a células que experimentan mitosis.

A lo largo de la presente solicitud, la expresión "trastorno cutáneo proliferativo" se refiere a cualquier enfermedad/trastorno de la piel caracterizado por una proliferación indeseada o aberrante de tejido cutáneo. Estas

afecciones se caracterizan normalmente por una proliferación de células epidérmicas o diferenciación celular incompleta, e incluyen, por ejemplo, ictiosis ligada al cromosoma X, psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis alérgica por contacto, hiperqueratosis epidermolítica, y dermatitis seborreica. Por ejemplo, la epidermodisplasia es una forma de desarrollo defectuoso de la epidermis. Otro ejemplo es "epidermolisis", que se refiere a un estado distendido de la epidermis con formación de pústulas y ampollas de forma espontánea o en el sitio de traumatismo.

El término "psoriasis" se refiere a un trastorno cutáneo hiperproliferativo que altera los mecanismos reguladores de la piel. En particular, se forman lesiones que implican alteraciones primarias y secundarias en la proliferación epidérmica, respuestas inflamatorias de la piel, y una expresión de moléculas reguladoras tales como linfoquinas y factores inflamatorios. La piel psoriásica está morfológicamente caracterizada por una renovación aumentada de células epidérmicas, epidermis engrosada, queratinización anormal, infiltrados de células inflamatorias en la capa dérmica e infiltración de leucocitos polimorfonucleares en la capa epidérmica provocando un aumento del ciclo de células basales. Adicionalmente, están presentes células hiperqueratócicas y paraqueratócicas.

El término "piel" se refiere a la cubierta protectora exterior del cuerpo, que consta del corion y la epidermis, y se entiende que incluye glándulas sudoríparas y sebáceas, así como estructuras de folículos capilares. A lo largo de la presente solicitud, puede usarse el adjetivo "cutáneo", y debe entenderse como referente generalmente a atributos de la piel, según sea apropiado al contexto en el que se usan.

Las expresiones "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente", como se usan en el presente documento, indican la administración de un compuesto, fármaco u otro material diferente directamente en el sistema nervioso central, de modo que entre en el sistema del paciente y, por tanto, se someta al metabolismo y a otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para producir el efecto deseado, por ejemplo, para reducir o mejorar la gravedad, duración, progresión o aparición de una enfermedad, afección o trastorno (por ejemplo, una enfermedad, afección o trastorno relacionado con la actividad de la vía Hedgehog) o uno o más síntomas del mismo; prevenir el avance de una enfermedad, afección o trastorno; causar la regresión de una enfermedad, afección o trastorno; prevenir la recurrencia, desarrollo, aparición o progresión de un síntoma asociado con una enfermedad, afección o trastorno; o potenciar o mejorar el efecto o efectos profilácticos o terapéuticos de otra terapia. Una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la presente invención puede variar, por ejemplo, de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 1000 mg/kg, o de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg. Las dosis eficaces también variarán, según reconocen los especialistas en la técnica, dependiendo del trastorno tratado, la vía de administración, el uso de excipientes, la edad y sexo del sujeto, y la posibilidad de uso conjunto con otros tratamientos terapéuticos tales como el uso de otros agentes. Se apreciará que una cantidad de un compuesto requerida para conseguir, por ejemplo, actividad antagonista de hedgehog, puede ser diferente de la cantidad de compuesto eficaz para otro propósito (por ejemplo, actividad antifúngica).

El término "DE_{50}" significa la dosis de un fármaco que produce el 50 % de su respuesta o efecto máximo. Como alternativa, la dosis que produce una respuesta predeterminada en el 50 % de los sujetos o preparaciones de ensayo.

El término "DL_{50}" significa la dosis de un fármaco que es letal en el 50 % de los sujetos de ensayo.

El término "índice terapéutico" se refiere al índice terapéutico de un fármaco definido como DL_{50}/DE_{50}.

El término "tratamiento" pretende abarcar también profilaxis, terapia y cura.

Como se usa en el presente documento, "célula o células transformadas" se refiere a células que se han convertido espontáneamente a un estado de crecimiento no restringido, es decir, han adquirido la capacidad de crecer a través de una cantidad indefinida de divisiones en cultivo. Las células transformadas pueden caracterizarse por términos tales como neoplásicas, anaplásicas y/o hiperplásicas, con respecto a su pérdida de control de crecimiento.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 (**A y B**) representa dos gráficos que muestran el tratamiento con itraconazol en modelos de cáncer de próstata. A) El tratamiento diario con itraconazol a dos dosis (Tx 37,5 y Tx 25 mg/kg) prolonga la supervivencia de forma tan eficaz como la ciclopamina en el modelo de metástasis AT6.3. B) El tratamiento con itraconazol de tumores establecidos de células cancerosas humanas 22RV i en ratones atímicos ralentiza el crecimiento (Tx 25 mg/kg) o causa regresión completa (-100 % del volumen; 37,5 mg/kg).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere al descubrimiento de que las vías de transducción de señales reguladas por hedgehog (Hh), patched (ptc) o smoothened (smo) pueden inhibirse por compuestos seleccionados, incluyendo itraconazol. Aunque sin el deseo de limitarse por ninguna teoría particular, estos agentes actúan inhibiendo la actividad de señalización Hh, por ejemplo, interfiriendo con la capacidad de hedgehog (Hh), patched (ptc), y/o

smoothened (smo) de activar una vía de transducción de señales mediada por hedgehog, ptc, y/o smoothened.

Hedgehog (Hh)

El gen hedgehog (Hh) se identificó inicialmente en base a sus requisitos para la formación normal de patrones segmentados en Drosophila (Nusslein-Volhard, C. y Wieschaus, E., Nature 287:795 801, 1980). Sus funciones incluyen señalización local para coordinar las identidades de células adyacentes dentro de los segmentos embrionarios tempranos (Hooper, J. E., y Scott, M. P. Early Embryonic Development of Animals, pág. 1-48, 1992) y una función posterior en la formación de patrones de cutícula que se extienden a través de muchos diámetros celulares (Heernskerk, J. y DiNardo, S., Cell, 76:449 460, 1994). El gen Hh también funciona en la formación de patrones de precursores imaginales de estructuras adultas, incluyendo los apéndices y el ojo (Mohler, J. Genetics, 120:1061 1072, 188; Ma, y col., Cell, 75:927 938, 1993; Heberlein, y col., Cell, 75:913 926, 1993; Tabata, T. y Kornberg, T. D., Cell, 76: 89102, 1992; Basler, K. y Struhl, G., Nature, 368:208 214, 1994). Las pruebas genéticas y moleculares indican que las proteínas hedgehog se secretan y funcionan en señalización extracelular (Mohler, J., anteriormente; Lee, y col., Cell, 71:33 50, 1992; Taylor, y col., Mech. Dev., 42:89 96, 1993).

En vertebrados, las actividades codificadas por homólogos Hh se han implicado en formación de patrones anterior/posterior de las extremidades (Riddle, y col., Cell, 75:1401 1416,1993; Chang, y col., Development, 120:3339, 1994), y en formación de patrones dorsal/ventral del tubo neural (Echelard, y col., Cell, 75:1417 1430, 1993; Krauss, y col., Cell, 75:1431 1444, 1993; Roelink, y col., Cell, 76:761 775, 1994).

En la mayoría de los tejidos embrionarios en los que la señalización hedgehog ejerce un efecto de formación de patrones, la activación de la vía Hedgehog está asociada con una respuesta proliferativa en células diana. Dichos tejidos embrionarios incluyen, aunque sin limitación, el desarrollo del tubo neural, el mesodermo presomítico y el mesodermo del botón de las extremidades en desarrollo. Además, la proliferación celular incontrolada, debido a la activación inapropiada de la vía de señalización Hedgehog, está asociada con la formación de diversos tipos de tumores incluyendo, aunque sin limitación, carcinoma de células basales, tumores endodérmicos, incluyendo cáncer de próstata, cáncer de próstata metastásico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, carcinomas del esófago, estómago, páncreas, tracto biliar, próstata o vejiga, carcinoma de células basales, meduloblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de mama y cáncer de ovario, meduloblastoma, y trastornos hematopoyéticos, incluyendo leucemia y mieloma múltiple.

La proliferación incontrolada en estos tumores probablemente se debe a la activación anormal de factores de transcripción tales como Gli1 que tiene un papel normal en la vía de señalización Hedgehog. Por ejemplo, en el caso de carcinoma de células basales, todos o casi todos los casos están asociados con una expresión de nivel inapropiadamente elevado del factor de transcripción Gli1 en queratinocitos basales (Dahmane y col., Nature 1997, 389(6653): 876-881). Se cree que dicha activación inapropiada de Gli1 desempeña un papel causal en la proliferación celular incontrolada asociada con carcinoma de células basales. La capacidad de modular la actividad de la vía Hh, por tanto, representa un posible enfoque terapéutico para varios cánceres clínicamente significativos.

El polipéptido hedgehog (Hh) se sintetiza como un precursor que experimenta autoprocesamiento para generar un fragmento amino-terminal (Hh-N) y un fragmento carboxi-terminal (Hh-C). Lee y col., Science, 266:1528 37, 1994. Hh-N contiene todas las actividades de señalización de Hh, mientras que Hh-C es responsable del autoprocesamiento y une una molécula de colesterol al extremo carboxi-terminal del Hh-N para regular su distribución espacial. (Porter, J. A., y col. Nature, 374:363 366,1995. Porter, J. A., y col. Science, 274:255 259, 1996. Porter, J. A. y col. Cell, 86:2134, 1996).

La mala regulación de diversos genes en la vía de señalización Hh puede conducir a un fenotipo que se parece a la activación Hh. Un aumento de la función de hedgehog se refiere a una modificación o mutación aberrante de un gen ptc, gen hedgehog o gen smoothened o a una disminución (o pérdida) en el nivel de expresión de dicho gen, que produce un fenotipo que se parece al del contacto de una célula con una proteína hedgehog, por ejemplo, activación aberrante de una vía Hedgehog. El aumento de función puede incluir una pérdida de la capacidad del producto génico ptc de regular el nivel de expresión de genes Ci, por ejemplo, Gli1, Gli2, y Gli3. La expresión "aumento de función de hedgehog" también puede hacer referencia a un fenotipo celular similar (por ejemplo, que muestra un exceso de proliferación) que se produce debido a una alteración en cualquier otra parte de la vía de transducción de señales hedgehog incluyendo, aunque sin limitación, una modificación o mutación de la propia hedgehog. Por ejemplo, una célula tumoral con una tasa de proliferación anormalmente elevada debido a la activación de la actividad de la vía Hedgehog tendría un fenotipo de "aumento de función de hedgehog", incluso si hedgehog no está mutada en esa célula.

Un aumento de función de smoothened se refiere a una modificación o mutación aberrante de un gen smo o un nivel aumentado de expresión del gen, que produce un fenotipo que se parece al del contacto de una célula con una proteína hedgehog, por ejemplo, activación aberrante de una vía Hedgehog. Aunque sin el deseo de limitarse por ninguna teoría particular, se aprecia que ptc puede no señalizar directamente al interior de la célula, sino interaccionar con smoothened, otra proteína unida a membrana localizada corriente abajo de ptc en la señalización hedgehog (Marigo y col., (1996) Nature 384: 177-179). El gen smo es un gen de polaridad de segmento necesario para la correcta formación de patrones de todos los segmentos en *Drosophila* (Alcedo y col., (1996) Cell 86: 221-

232). Se han identificado homólogos humanos de smo. Véase, por ejemplo, Stone y col., (1996) Nature 384:129-134, y el acceso a GenBank U84401. El gen smoothened codifica una proteína de membrana integral con características de receptores heterotriméricos acoplados a proteína G; es decir, 7 regiones transmembrana. Esta proteína muestra homología con la proteína Frizzled (Fz) de *Drosophila*, un miembro de la vía wingless. Originalmente se creyó que smo codificaba un receptor de la señal Hh. Sin embargo, esta sugerencia se desaprobó posteriormente, ya que se obtuvieron pruebas de que ptc era el receptor Hh. Las células que expresan smo no logran unirse a Hh, lo que indica que smo no interacciona directamente con Hh (Nusse, (1996) Nature 384: 119-120). En su lugar, se cree que la unión de Sonic hedgehog (SHH) a su receptor, PTCH, impide la inhibición normal por PTCH de smoothened (SMO), una proteína de siete regiones transmembrana. Patente de Estados Unidos Nº 6.867.216, procedimientos y reactivos para inhibir la activación de la vía dependiente de smoothened. Pérdida de función de patched se refiere a una modificación o mutación aberrante de un gen ptc o un nivel disminuido de expresión del gen, que produce un fenotipo que se parece al del contacto de una célula con una proteína hedgehog, por ejemplo, activación aberrante de una vía Hedgehog. La expresión "pérdida de función de ptc" también se usa en el presente documento para hacer referencia a cualquier fenotipo celular similar (por ejemplo, que muestra un exceso de proliferación) que sucede debido a una alteración en cualquier otra parte en la vía de transducción de señales hedgehog incluyendo, aunque sin limitación, una modificación o mutación de la propia ptc. Por ejemplo, una célula tumoral con una tasa de proliferación anormalmente elevada debido a la activación de la actividad de la vía Hedgehog tendría un fenotipo de "pérdida de función de ptc", incluso si ptc no está mutada en esa célula.

La vía de señalización Hh se conoce mejor por su papel dirigiendo la formación de patrones durante el desarrollo embrionario, pero también funciona post-embrionariamente en la activación y expansión de células madre o progenitoras en diversos tejidos adultos, particularmente en respuesta a lesión tisular. Este papel regulador de células madre de la señalización Hh es de gran relevancia potencial para el cáncer, que se ve cada vez más como una enfermedad de células madre, tanto en su propagación por una minoría de células con propiedades de tipo célula madre como en su posible derivación de células madre tisulares normales.

La patente de Estados Unidos Nº 6.432.970, describe ensayos y reactivos para inhibir las señales paracrinas y/o autocrinas producidas por una proteína hedgehog que comprende poner en contacto una célula sensible a la proteína hedgehog con un alcaloide esteroideo, u otra molécula pequeña, en una cantidad suficiente para reducir la sensibilidad de la célula a la proteína hedgehog.

Itraconazol

El itraconazol o (±)-cis-4-[4-[4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il-metil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]-1-piperazinil]fenil]-2,4-dihidro-2-(1-metilpropil)-3H-1,2,4-triazol-3-ona, o como alternativa 2-butan-2-il-4-[4-[4-[4-[[(2R,4S)-2-(2,4-diclorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazin-1-il]fenil]-1,2,4-triazol-3-ona, es un compuesto antifúngico de amplio espectro desarrollado para uso oral, parenteral y tópico y se desvela en la patente de Estados Unidos Nº 4.267.179, incorporada en el presente documento por referencia en su totalidad. Un análogo difluoro, saperconazol o (±-)-cis-4-[4-[4-[4-[[2-(2,4-difluorofenil)-1H-1,2,4-triazol-1-ilmeti-1)-1,3-dioxolan-4il]metoxi]fenil]-1-piperazinil]fenil]-2,4-dihidro-2-(-1-metoxipropil)-3H-1,2,4-triazol-3-ona, tiene actividad mejorada contra Aspergillus spp. y se desvela en la patente de Estados Unidos Nº 4.916.134, incorporada en el presente documento por referencia en su totalidad. Tanto el itraconazol y como el saperconazol constan de una mezcla de cuatro diaestereoisómeros, cuya preparación y utilidad se desvelan en el documento WO 93/19061: los diaestereoisómeros de itraconazol y saperconazol se denominan [2R-[2-alfa, 4-alfa,4(R*)]], [2R-[2.alfa.,4.alfa.,4(S*)]], [2S-[2.alfa.,4.alfa.,4(S*)]] y [2S-[2.alfa.,4.alfa.,4(R*)]]. El término "itraconazol" como se usa a partir de ahora en el presente documento debe interpretarse ampliamente y comprende la forma de base libre y las sales de adición farmacéuticamente aceptables de itraconazol, o de uno de sus estereoisómeros, o de una mezcla de dos o tres o cuatro de sus estereoisómeros. Uno de dichos compuestos de itraconazol es la forma (±)-(2R*, 4S*) o (cis) de la forma de base libre, que tiene el número del Registro de Resúmenes Químicos [84625-61-6]. Las formas de adición de ácidos pueden obtenerse por reacción de la forma de base con un ácido apropiado. Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como halhídricos, por ejemplo ácido clorhídrico o bromhídrico; ácido sulfúrico; ácido nítrico; ácido fosfórico y similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, propanoico, hidroxiacético, 2-hidroxipropanoico, 2-oxopropanoico, etanodioico, propanodioico, butanodioico, (Z)-butenodioico, (E)-butenodioico, 2-hidroxibutanodioico, 2,3-dihidroxibutanodioico, 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, 4-metilbencenosulfónico, ciclohexanosulfámico, 2-hidroxi-benzoico, 4-amino-2-hidroxibenzoico y similares.

El itraconazol es un fármaco aprobado por la FDA que ahora se ha descubierto que tiene actividad inhibidora de hedgehog (medida en un ensayo *in vitro*) y ha mostrado una clara eficacia en modelos de ratón de cáncer de próstata (por ejemplo, como se muestra en los Ejemplos, más adelante*),* con capacidad para suprimir la metástasis y el crecimiento canceroso. Sin el deseo de limitarse por ninguna teoría, se cree que la actividad inhibidora de hedgehog del itraconazol puede estar relacionada (al menos en parte) con la capacidad del itraconazol de inhibir la biosíntesis de esterol, inhibiendo de este modo smoothened. Por ejemplo, un papel para el colesterol es un aducto covalente para la forma biológicamente activa de la proteína hedgehog (Hh), que se forma como un producto de una reacción de autoprocesamiento que implica escisión interna. La adhesión del colesterol restringe el despliegue espacial de la señal Hh, influyendo de este modo en el patrón de las respuestas celulares en tejidos en desarrollo. Se presenta una revisión de la modificación con colesterol de proteínas Hh en Mann y Beachy (Ann. Rev. Biochem.,

Vol. 73: 891-923 (2004)) Además de su papel en la producción de señales Hh, el colesterol tiene un papel esencial en la mediación de la respuesta a la señal Hh dentro de células diana, y este papel se muestra por las alteraciones genéticas o inducidas por fármaco de la homeostasis del colesterol que vuelven a los tejidos diana insensibles a la señal Hh. Por tanto, se observa una respuesta defectuosa a la señalización hedgehog en ciertos trastornos de la biosíntesis del colesterol, tal como desmosterolosis y latosterolosis, síndromes humanos causados por defectos en las fases finales de la biosíntesis del colesterol.

Ensayos de exploración

La invención también se refiere a ensayos de exploración para identificar agentes que antagonizan la señalización Hedgehog (Hg). El procedimiento de exploración también es útil para identificar variantes, agentes de unión o bloqueantes, etc., que funcionalmente, si no físicamente (por ejemplo, estéricamente) actúen como antagonistas o agonistas, según se desee.

Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas y formulaciones de la presente invención incluyen composiciones farmacéuticas de los compuestos antagonistas de Hedgehog desvelados en el presente documento (por ejemplo, los compuestos de la Tabla 1, tales como itraconazol), que pueden administrarse a un mamífero, y también pueden incluir composiciones veterinarias, por ejemplo, preparaciones farmacéuticas de los presentes compuestos para usos veterinarios, por ejemplo, para el tratamiento de ganado o animales domésticos, por ejemplo, perros. Como se describe en mayor detalle a continuación, se contempla que los presentes procedimientos pueden realizarse usando una diversidad de diferentes antagonistas de Hedgehog, que pueden identificarse fácilmente por sus valores de CI_{50}. Los antagonistas ejemplares de Hedgehog para su uso en los presentes procedimientos incluyen itraconazol y los siguientes compuestos de la Tabla 1: salinomicina sódica, oligomicina, colchicina, resina Podophyllum, aceite de crotón, jarabe Ipecac, vindesina, sulfato de vincristina, demecolcina, tartrato de vinorelbina, succinato de loxapina, ciproheptadina, itraconazol, colchiceína, maleato de pimetixeno, diaziquona, sulfisomidina, ciclohexamida, ciclopamina, aceite de hígado de bacalao, metoxivona, clorhidrato de prometazina, sulfaquinoxalina sódica, sulfato de vinblastina, hidroxizina, eucaliptol, rotenona, clorhidrato de fenoxibenzamina, 5-azacitidina, clorhidrato de W-7, dihidroartemisinina, clompramina, clorhidrato de raloxifina, sal mesilato de doxazosina, dihidroartemisinina, comipramina, clorhidrato de raloxafina, sal mesilato de doxazpsina, sal difosfato de cloroquina, imipramina, tioridiazina, clotiapina, zolantidina, acetato de crasina, éter bencílico de estriol, N-mostaza de flufenazina (SKF-7171A), aceite de almendra, clorhidrato de promazina, acetato de estradiol, maleato de trimipramina, acetato de cobre (II), 3-benzoato de estradiol, amitriptilina, Clorquinaldol (5,7-dicloro-2-metil-8-quinolinol).

En una realización, los procedimientos y composiciones de la presente invención hacen uso del itraconazol y sales farmacéuticamente aceptables del mismo. Otros compuestos útiles en los procedimientos y composiciones de la invención incluyen sulfisomidina (conocida como un antibiótico), y sales farmacéuticamente aceptables de la misma; resina podophyllum (conocida como un tratamiento contra las verrugas o los callos), y sales farmacéuticamente aceptables de la misma; y colchicina (conocida como inhibidor de microtúbulos en terapia contra el cáncer), y sales farmacéuticamente aceptables de la misma.

La patente de Estados Unidos Nº 6.485.743 describe preparaciones orales de itraconazol. La patente de Estados Unidos Nº 7.081.255 describe composiciones farmacéuticas de itraconazol que pueden administrarse a un mamífero, mediante las cuales puede administrarse una única forma de dosificación individual una vez al día, y además en cualquier momento del día independientemente del alimento tomado por dicho mamífero. La patente de Estados Unidos Nº 6.946.137 proporciona un procedimiento para el suministro controlado de compuestos farmacológicamente activos, tales como itraconazol, en el tiempo. La patente de Estados Unidos Nº 6.407.079 describe composiciones farmacéuticas en las que se usan derivados de ciclodextrina para solubilizar compuestos, incluyendo itraconazol, que de otro modo son insolubles o solamente escasamente solubles en agua.

La invención proporciona composiciones que comprenden un compuesto de acuerdo con la invención, por ejemplo itraconazol, mezclando con un vehículo fisiológicamente compatible. Como se usa en el presente documento, "vehículo fisiológicamente compatible" se refiere a diluyentes fisiológicamente aceptables tales como agua, solución salina tamponada con fosfato o solución salina, y además pueden incluir un adyuvante. Los adyuvantes tales como adyuvante incompleto de Freund, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio o alumbre son materiales bien conocidos en la técnica.

Pueden proporcionarse procedimientos de introducción mediante dispositivos recargables o biodegradables. Se han desarrollado diversos dispositivos poliméricos de liberación lenta y se han ensayado *in vivo* en los últimos años para el suministro controlado de fármacos, incluyendo agentes biofarmacéuticos proteicos. Puede usarse una diversidad de polímeros biocompatibles (incluyendo hidrogeles), incluyendo polímeros tanto biodegradables como no degradables, para formar un implante para la liberación sostenida de un presente compuesto a un sitio diana particular.

Las preparaciones de la presente invención pueden proporcionarse por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Por supuesto se proporcionan mediante formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran

en forma de comprimidos o cápsulas, por inyección, inhalación, loción ocular, pomada, supositorio, parche de liberación controlada, etc. administración por inyección, infusión o inhalación; tópica mediante loción o pomada; y rectal mediante supositorios. Por ejemplo, en ciertas realizaciones se administra sulfisomidina en formulación tópica, pero también puede administrarse de forma sistémica.

Las composiciones farmacéuticas para administración oral puede formularse usando vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica en dosificaciones adecuadas para administración oral. Dichos vehículos posibilitan que las composiciones farmacéuticas se formulen en forma de comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para la ingesta por parte del sujeto. La patente de Estados Unidos 6.737.082 describe preparaciones farmacéuticas orales de composiciones de itraconazol.

Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse a través de la combinación de compuestos activos con un excipiente sólido, opcionalmente moliendo la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después añadiendo auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de gragea. Los excipientes adecuados son cargas de carbohidrato o proteína tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; almidón de maíz, trigo, arroz, patata, u otras plantas; celulosa tal como metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa sódica; y gomas incluyendo goma arábiga y de tragacanto; y proteínas tales como gelatina y colágeno. Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes o solubilizantes, tales como polivinilpirrolidona reticulada, goma de agar, ácido algínico o una sal del mismo, tal como alginato sódico.

Los núcleos de gragea se proporcionan con recubrimientos adecuados tales como soluciones de azúcar concentrado, que también pueden contener goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, soluciones de laca, y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. Pueden añadirse colorantes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de gragea para la identificación del producto o para caracterizar la cantidad de compuesto activo, es decir, la dosificación.

Las preparaciones farmacéuticas que pueden usarse por vía oral incluyen cápsulas de ajuste por presión fabricadas de gelatina, así como cápsulas blandas, selladas fabricada de gelatina y un revestimiento tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste por presión pueden contener principios activos mezclados con una carga o aglutinantes tales como lactosa o almidones, lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicol líquido con o sin estabilizantes.

Pueden añadirse principios adicionales a la composición tópica, siempre que sean farmacéuticamente aceptables y no perjudiciales para las células epiteliales o su función. Además, no deben afectar de forma adversa a la eficacia de penetración epitelial de la composición, y no deben causar deterioro en la estabilidad de la composición. Por ejemplo, pueden estar presentes fragancias, opacificantes, antioxidantes, agentes gelificantes, estabilizantes, tensioactivos, emolientes, agentes colorantes, conservantes, agentes tamponantes, y similares. El pH de la composición tópica de la presente invención puede ajustarse a un intervalo fisiológicamente aceptable de 6,0 a 9,0 añadiendo agentes tamponantes a la misma para que la composición sea fisiológicamente compatible con la piel. En una realización, la resina podophyllum es particularmente adecuada para formulación tópica para el tratamiento, por ejemplo, de lesiones cancerosas sobre la piel.

Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de compuestos activos. Para inyección, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer o solución salina fisiológicamente tamponada. Las suspensiones acuosas de inyección pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol o dextrano. Además, las suspensiones de los disolventes activos o vehículos incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo o ésteres sintéticos de ácidos grasos, tales como oleato de etilo o triglicéridos o liposomas. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes adecuados o agentes que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.

Para administración nasal, se usan en la formulación penetrantes apropiados para penetrar la barrera particular. Dichos penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden fabricarse de un modo conocido en la técnica, por ejemplo, mediante procedimientos convencionales de mezcla, disolución, granulado, formación de grageas, levitación, emulsionado, encapsulado, inclusión o liofilización.

La composición farmacéutica puede proporcionarse en forma de una sal y puede formarse con muchos ácidos, incluyendo, aunque sin limitación, ácido clorhídrico, sulfúrico, acético, láctico, tartárico, málico, succínico, etc. Las sales tienden a ser más solubles en disolventes acuosos u otros disolventes protónicos que son las formas de base libre correspondientes. En otros casos, la preparación preferida puede ser un polvo liofilizado en histidina 1 mM-50 mM, sacarosa al 0,1 %-2 %, manitol al 2 %-7 % a un intervalo de pH de 4,5 a 5,5 que se combina con tampón antes de su uso.

Después de haber preparado las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención formulado en un vehículo aceptable, pueden colocarse en un recipiente apropiado y etiquetarse para el tratamiento de una afección indicada con información que incluya la cantidad, frecuencia y procedimiento de administración.

La invención también incluye el uso de un compuesto en la fabricación de un medicamento para inhibir la actividad de la vía Hedgehog, en el que el compuesto se selecciona entre los compuestos enumerados en la Tabla 1.

Terapia de combinación

En ciertas realizaciones, la invención facilita terapias de combinación. Por ejemplo, puede usarse itraconazol en terapia en combinación con otros compuestos. Por ejemplo, puede co-administrarse itraconazol en combinación con otros compuestos, por ejemplo, a una proporción en el intervalo de 1:1-1:5-5:1, 1:1-1:10-10:1, 1:1-1:25-25:1, 1:1-1:100-100:1, 1:1-1:1000-1000:1 ó 1:1-1:10.000-10.000:1. Los compuestos contemplados para su uso en terapia de combinación con itraconazol incluyen anti-andrógenos (incluyendo flutamida, bicalutamida, y nilutamida), agonistas de LHRH, antagonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), y agentes quimioterapéuticos tales como gemcitabina (particularmente en el tratamiento de cáncer pancreático), compuestos de platino (tales como cisplatino, usado en el tratamiento de cáncer de pulmón), mitozantrona, doxorrubicina, vinblastina, paclitaxel, docetaxel, fosfato de estramustina, y etopósido. Otra terapia de combinación contemplada por la invención incluye el tratamiento con itraconazol en combinación con cirugía, por ejemplo, retirada quirúrgica de un tumor y/o el tejido adyacente, por ejemplo, eliminación de volumen de la masa tumoral. En un ejemplo particular, la terapia de combinación puede usarse en el tratamiento de meduloblastoma. El tratamiento convencional para ciertos cánceres, tales como meduloblastoma, es radioterapia. Por tanto, los procedimientos de la invención contemplan el uso de itraconazol con radioterapia para disminuir la dosificación de radiación necesaria y/o para mejorar la eficacia del tratamiento en comparación con la radiación sola.

Dosificación y modo de administración

Como se ha descrito, estos compuestos pueden administrarse a seres humanos y otros animales para terapia por cualquier vía adecuada de administración, incluyendo vía oral, nasal, como por, por ejemplo, un pulverizador, vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, como mediante polvos, pomadas o gotas, incluyendo vía bucal y sublingual.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que pueden usarse en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables tal como se describe a continuación o por otros procedimientos convencionales conocidos para los especialistas en la técnica.

Los niveles reales de dosificación de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden variarse para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin ser tóxica para el paciente.

El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una diversidad de factores incluyendo la actividad del compuesto particular de la presente invención empleado o el éster, sal o amida del mismo, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto particular que se está empleando, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación con el compuesto particular empleado, la edad, sexo, peso, estado, salud general e historia médica previa del paciente que se está tratando, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Se apreciará que, aunque ciertos compuestos de acuerdo con la presente invención (es decir, compuestos enumerados en la Tabla 1) están fácilmente disponibles y están aprobados para ciertos usos en seres humanos y/o animales, la cantidad o dosis del compuestos necesaria para inhibir la actividad de la vía Hedgehog puede diferir de (por ejemplo, ser mayor o menor que) la cantidad de compuesto necesaria para conseguir un resultado de acuerdo con el uso o usos aprobados del compuesto.

Un médico o veterinario con habilidad en la técnica puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad eficaz de la composición farmacéutica necesaria. Por ejemplo, el médico o veterinario podría iniciar la dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica a niveles inferiores a los requeridos para conseguir el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosificación hasta conseguir el efecto deseado.

En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será esa cantidad del compuesto que sea la dosis eficaz más baja para producir un efecto terapéutico. Dicha dosis eficaz generalmente dependerá de los factores descritos anteriormente. Generalmente, las dosis de los compuestos de la presente invención para un paciente variarán de 0,0001 a 100 mg por kilogramo de peso corporal por día. En ciertas realizaciones, la dosificación está entre 1 mg/kg y 500 mg/kg, más preferentemente entre 5 mg/kg y 50 mg/kg.

Si se desea, la dosis diaria eficaz del compuesto activo puede administrarse en forma de dos, tres, cuatro, cinco, seis o más sub-dosis administradas por separado a intervalos apropiados durante todo el día, opcionalmente, en

formas de dosificación unitaria.

El paciente que recibe este tratamiento es cualquier animal que lo necesite, incluyendo primates, en particular seres humanos, y otros mamíferos tales como equinos, vacas, cerdos y ovejas; y aves de corral y mascotas en general. En realizaciones preferidas, un animal que necesita el tratamiento, es un sujeto que padece, o es susceptible a, un trastorno de la señalización Hh.

El compuesto de la invención puede administrarse como tal o en mezclas con vehículos farmacéuticamente aceptables y/o estériles y también puede administrarse junto con otros agentes antimicrobianos tales como penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos y glucopéptidos. La terapia combinada, por tanto, incluye la administración secuencial, simultánea y separada del compuesto activo de un modo que no hayan desaparecido completamente los efectos terapéuticos del primero administrado cuando se administra el siguiente.

El intervalo de dosificación para la administración requerirá al menos la cantidad necesaria para terapia antifúngica convencional. Las cantidades las ajustará el médico según sea necesario.

Procedimientos terapéuticos

Los compuestos preferidos para su uso en los procedimientos terapéuticos de la invención produce una disminución de al menos el 10 % al 15 % en la señalización Hh en un ensayo de señalización Hh (véase, por ejemplo, el Ejemplo del presente documento) con relación a la señalización Hh medida en ausencia del compuesto ensayado en dicho ensayo convencional, más preferentemente una disminución de al menos el 20 % o el 25 % en la señalización Hh con relación a un control, y aún más preferentemente induce una disminución de al menos el 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % en la señalización Hh con relación a la ausencia del compuesto ensayado en dicho ensayo convencional.

Los procedimientos de la presente invención incluyen inhibir la actividad de la vía Hedgehog en un sujeto a través del uso de un compuesto inhibidor o composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de itraconazol administradas al sujeto, para modular de este modo la señalización hedgehog. En realizaciones ejemplares, el compuesto inhibidor es itraconazol. Los procedimientos de la invención pueden usarse en la regulación del crecimiento maligno de una amplia gama de células, tejidos y órganos, incluyendo células, tejidos, y órganos normales, así como aquellos que tienen el fenotipo de pérdida de función ptc, aumento de función hedgehog o aumento de función smoothened. Por ejemplo, el presente procedimiento tiene aplicaciones terapéuticas y cosméticas que varían desde la regulación de la tumorigénesis, la metástasis, los tejidos neurales, la formación y reparación de huesos y cartílagos, la regulación de la espermatogénesis, la regulación del músculo liso, la regulación de los pulmones, el hígado y otros órganos que surgen del intestino primitivo, la regulación de la función hematopoyética, la regulación del crecimiento cutáneo y capilar, etc. Además, los presentes procedimientos pueden realizarse en células que se proporcionan en cultivo (*in vitro*) o en células en un animal completo (*in vivo*).

La invención facilita el tratamiento del cáncer, que surge en epitelios de órganos derivados endodérmicamente incluyendo cáncer de pulmón microcítico, y carcinomas del esófago, estómago, páncreas, tracto biliar, próstata, y vejiga. Otras indicaciones apropiadas para el tratamiento mediante este procedimiento incluyen carcinoma de células basales, meduloblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de ovario y mieloma múltiple. En otras realizaciones, la presente invención puede encontrar aplicaciones en el tratamiento de otras afecciones tales como psoriasis e hirsutismo.

Los presentes compuestos y composición pueden usarse para tratar el cáncer de próstata o cáncer de próstata metastásico. Un uso ejemplar de los procedimientos de la invención es en una población de pacientes con cánceres de próstata agresivos, dependientes de la vía Hh. Los compuestos y procedimientos de la invención pueden usarse en estos pacientes identificados de alto grado que rechazan la cirugía.

En otra realización más, la invención facilita el tratamiento de cánceres humanos, particularmente carcinomas de células basales y otros tumores de tejidos epiteliales tales como la piel. Por ejemplo, los presentes compuestos pueden emplearse, en el presente procedimiento, como parte de un tratamiento para el síndrome de nevos de células basales (BCNS), y otros carcinomas, adenocarcinomas, sarcomas humanos y similares.

La invención facilita el tratamiento de transformaciones neoplásicas o hiperplásicas tales como las que pueden aparecer en el sistema nervioso central. Por ejemplo, los presentes compuestos pueden utilizarse para hacer que dichas células transformadas se vuelvan post-mitóticas o apoptóticas. El presente procedimiento puede, por lo tanto, usarse como parte de un tratamiento para, por ejemplo, gliomas malignos, meningiomas, meduloblastomas, tumores neuroectodérmicos, y ependimomas.

En una realización preferida, la invención permite parte de un régimen de tratamiento para tratar el carcinoma de células basales. La desregulación de la vía de señalización hedgehog puede ser una característica general de carcinomas de células basales producidos por mutaciones de ptc. La sobreexpresión constante del ARNm de la ptc humana se ha descrito en tumores de BCC familiares y esporádicos, determinados por hibridación *in situ*. Podría esperarse que mutaciones que inactivan ptc provocaran la sobreexpresión de Ptc mutante, ya que ptc presenta autorregulación negativa. Investigaciones previas demuestran que la sobreexpresión de proteínas hedgehog

también puede conducir a tumorigénesis. Se ha sugerido que Sonic hedgehog (Shh) tiene un papel en la tumorigénesis en ratones mediante investigaciones en las que ratones transgénicos que sobreexpresan Shh en la piel desarrollaban características de BCNS, incluyendo múltiples proliferaciones epidérmicas tipo BCC sobre la superficie completa de la piel, tras solamente unos pocos días de desarrollo cutáneo. También se describió una mutación en el gen humano de Shh de un BCC; esto sugirió que Shh u otros genes Hh en seres humanos podrían actuar como oncogenes dominantes en seres humanos. También se han observado mutaciones esporádicas de ptc en BCC de individuos por lo demás normales, algunas de las cuales son mutaciones de carácter UV. En un estudio reciente de BCC esporádicos, se hallaron cinco mutaciones de tipo característico UV, cambios CT o CCTT, entre quince tumores que se determinó que contenían mutaciones ptc. Otro análisis reciente de mutaciones ptc esporádicas en BCC y tumores neuroectodérmicos reveló un cambio CT en una de tres mutaciones ptc halladas en los BCC. Véase, por ejemplo, Goodrich y col. (1997) Science 277:1109-13; Xie y col. (1997) Cancer Res 57:2369-72; Oro y col. (1997) Science 276:817-21; Xie y col. (1997) Genes Chromosomes Cancer 18:305-9; Stone y col. (1996) Nature 384:129-34; y Johnson y col. (1996) Science 272:1668-71.

La invención también puede facilitar el tratamiento de pacientes con BCNS, por ejemplo, para prevenir BCC u otros efectos de la enfermedad que puede ser el resultado de pérdida de función de ptc, aumento de función de hedgehog o aumento de función de smoothened. El síndrome de nevos de células basales es un trastorno dominante autosómico poco frecuente caracterizado por múltiples BCC que aparecen a una edad temprana. Los pacientes de BCNS son muy susceptibles al desarrollo de estos tumores; en la segunda década de su vida, aparecen grandes cantidades principalmente en áreas de la piel expuestas al sol. Esta enfermedad también produce varias anormalidades en el desarrollo, incluyendo alteraciones en las costillas, la cabeza y la cara, y a veces polidactilia, sindactilia, y espina bífida. También desarrollan varios tipos de tumores además de BCC: fibromas de los ovarios y el corazón, quistes de la piel y las mandíbulas, y en el sistema nervioso central, meduloblastomas y meningiomas. La invención puede facilitar la prevención o el tratamiento de dichos tipos de tumores en pacientes de BCNS y no BCNS. Estudios de pacientes de BCNS muestran que pueden tener mutaciones tanto genómicas como esporádicas en el gen ptc, lo que sugiere que estas mutaciones son la causa final de esta enfermedad.

En otro aspecto, la presente invención proporciona preparaciones farmacéuticas y procedimientos para controlar la formación de células derivadas de megacariocitos y/o para controlar el rendimiento funcional de células derivadas de megacariocitos. Por ejemplo, ciertas composiciones desveladas en el presente documento pueden aplicarse al tratamiento o prevención de una diversidad de afecciones hiperplásicas o neoplásicas que afectan a las plaquetas.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para modular el estado diferenciado, la supervivencia, y/o la proliferación de una célula, tal como una célula normal o una célula que tiene pérdida de función de ptc, aumento de función de hedgehog o aumento de función de smoothened, poniendo en contacto las células con un compuesto expuesto anteriormente de acuerdo con el presente procedimiento y según requieran las circunstancias.

Por ejemplo, como parece que hedgehog, ptc, y smoothened están implicadas en la formación de disposiciones espaciales ordenadas de tejidos diferenciados en vertebrados, el presente procedimiento podría usarse como parte de un procedimiento para generar y/o mantener una serie de tejido vertebrado diferente tanto *in vitro* como *in vivo*. El compuesto, ya sea inductivo o anti-inductivo con respecto a la proliferación o diferenciación de un tejido dado puede ser, según sea apropiado, cualquiera de las preparaciones descritas en el presente documento.

La invención también proporciona procedimientos para inhibir la actividad de señalización de hedgehog en una célula. El procedimiento incluye la etapa de poner en contacto la célula con (por ejemplo, administrando a la célula) una cantidad eficaz de uno cualquiera de los compuestos de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, inhibiendo de este modo la actividad de señalización de hedgehog en la célula.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para inhibir la actividad de la vía Hedgehog en una célula. El procedimiento incluye la etapa de administrar una cantidad eficaz de un compuesto seleccionado entre los compuestos de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, a la célula (poniendo en contacto la célula con el compuesto), inhibiendo de este modo la actividad de la vía Hedgehog en la célula.

En ciertas realizaciones de los aspectos anteriores, la célula es una célula de mamífero, más preferentemente una célula humana.

Por ejemplo, los presentes procedimientos para usar los presentes compuestos son aplicables a técnicas de cultivo celular en las que es deseable controlar la proliferación o diferenciación de la célula. Un presente compuesto puede emplearse en un procedimiento dirigido a células que tienen un fenotipo de pérdida de función de ptc, aumento de función de hedgehog o aumento de función de smoothened. Sistemas de cultivo neuronal in vitro han demostrado ser herramientas fundamentales e indispensables para el estudio del desarrollo neural, así como la identificación de factores neurotróficos tales como el factor de crecimiento nervioso (NGF), factores tróficos ciliares (CNTF), y factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). Un uso del presente procedimiento puede ser en cultivos de células madre neuronales, tal como en el uso de dichos cultivos para la generación de nuevas neuronas y glía. En dichas realizaciones del presente procedimiento, las células cultivadas pueden ponerse en contacto con un compuesto de la presente invención para alterar la tasa de proliferación de células madre neuronales en el cultivo y/o para alterar la

tasa de diferenciación, o para mantener la integridad de un cultivo de ciertas células neuronal diferenciadas de forma terminal. En una realización ejemplar, el presente procedimiento puede usarse para cultivar, por ejemplo, neuronas sensoriales o, como alternativa, neuronas motoras. Dichos cultivos neuronales pueden usarse como sistemas de ensayo prácticos así como fuentes de células implantables para tratamientos terapéuticos.

El procedimiento para usar los presentes compuestos es aplicable a técnicas de cultivo celular en las que es deseable controlar la proliferación o diferenciación de la célula. Un presente compuesto puede emplearse en un procedimiento dirigido a células que tienen un fenotipo de pérdida de función de ptc, aumento de función de hedgehog o aumento de función de smoothened que produce una señalización Hh aberrante. Los sistemas de cultivo neuronal *in vitro* han demostrado ser herramientas fundamentales y indispensables para el estudio del desarrollo neural, así como la identificación de factores neurotróficos tales como el factor de crecimiento nervioso (NGF), factores tróficos ciliares (CNTF), y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). GLOBAL: No estoy completamente cómodo con el lenguaje "fenotipo de pérdida de función de ptc, aumento de función de hedgehog, o aumento de función de smoothened" con referencia a genes diana, la activación de la vía representará todas esas cosas.

Otro aspecto más de la presente invención se refiere a la observación en la técnica de que ptc, hedgehog, y/o smoothened están implicadas en señales morfogénicas implicadas en otras vías organogénicas de vertebrados además de en la diferenciación neuronal como se ha descrito anteriormente, teniendo papeles evidentes en la formación de otros patrones endodérmicos, así como procesos de diferenciación tanto mesodérmicos como endodérmicos. Por tanto, la invención contempla que composiciones que comprenden uno o más de los presentes compuestos también pueden utilizarse para procedimientos tanto de cultivo celular como terapéuticos que implican la generación y mantenimiento de tejido.

Levine y col. (1997) J Neurosci 17:6277 muestran que las proteínas hedgehog pueden regular la mitogénesis y la diferenciación de los foto-receptores en la retina de vertebrados, y que Ihh es un factor candidato del epitelio pigmentado para promover la proliferación de progenitores retinales y la diferenciación de los foto-receptores. Asimismo, Jensen y col. (1997) Development 124:363 demostraron que el tratamiento de cultivos de células retinales de ratón perinatal con el fragmento amino-terminal de Sonic hedgehog produce un aumento en la proporción de células que incorporan bromodesoxuridina, en cantidades de células totales, y en foto-receptores de los bastones, células amacrinas y células gliales Muller, lo que sugiere que Sonic hedgehog promueve la proliferación de células precursoras retinales. Por tanto, el presente procedimiento puede usarse en el tratamiento de enfermedades proliferativas de células retinales y para regular la diferenciación de los foto-receptores.

La presente invención puede usarse para controlar el crecimiento capilar. El cabello está básicamente compuesto por queratina, una proteína dura e insoluble; su gran resistencia se basa en su enlace disulfuro de cistina. Cada cabello individual comprende un tallo cilíndrico y una raíz, y está incluido en un folículo, una depresión de tipo frasco en la piel. La parte inferior del folículo contiene una proyección de tipo dedo terminada en la papila, que consta de tejido conectivo a partir de cual crece el cabello, y a través del cual los vasos sanguíneos suministran a las células el alimento. El tallo es la parte que se extiende hacia afuera desde la superficie cutánea, mientras que la raíz se ha descrito como la parte enterrada del cabello. La base de la raíz se expande en el bulbo capilar, que descansa sobre la papila. Las células a partir de las cuales se produce el cabello crecen en el bulbo del folículo; se extruyen en forma de fibras según proliferan las células en el folículo. El "crecimiento" del cabello se refiere a la formación y alargamiento de la fibra capilar mediante las células en división.

Como se sabe bien en la técnica, el ciclo capilar común se divide en tres fases: anágena, catágena y telógena. Durante la fase activa (anágena), las células madre epidérmicas de la papila dérmica se dividen rápidamente. Las células hija se mueven hacia arriba y se diferencian para formar capas concéntricas del propio cabello. La fase de transición, catágena, está marcada por el cese de la mitosis de las células madre en el folículo. La fase de reposo es conocida como telógena, donde el cabello se retiene dentro del cuero cabelludo durante varias semanas antes de que un nuevo cabello emergente desarrollándose por debajo expulse el Tello en fase telógena de su folículo. A partir de este modelo, ha quedado claro que cuanto mayor es la combinación de células madre en división que se diferencian en células capilares, más crecimiento capilar sucede. Por consiguiente, pueden realizarse procedimientos para aumentar o reducir el crecimiento capilar potenciado o inhibiendo, respectivamente, la proliferación de estas células madre.

El presente procedimiento puede emplearse como un medio para reducir el crecimiento de vello humano en oposición a su eliminación convencional por corte, afeitado o depilación. Por ejemplo, el presente procedimiento puede usarse en el tratamiento de tricosis caracterizada por un crecimiento anormalmente rápido o denso de vello, por ejemplo, hipertricosis. En una realización ejemplar, los presentes compuestos pueden usarse para tratar el hirsutismo, un trastorno caracterizado por vellosidad anormal. El presente procedimiento también puede proporcionar un procedimiento para prolongar la duración de la depilación.

Además, como un presente compuesto a menudo será citostático para las células epiteliales, en lugar de citotóxico, dichos agentes pueden usarse para proteger las células del folículo capilar de los agentes citotóxicos que requieren progresión en fase S del ciclo celular para su eficacia, por ejemplo, la muerte inducida por radiación. La invención puede proporcionar protección causando que las células del folículo capilar se vuelvan quiescentes, por ejemplo,

inhibiendo la entrada de las células en fase S, y evitando de este modo que las células foliculares experimenten catástrofe mitótica o muerte celular programada. Por ejemplo, los presentes compuestos pueden usarse para pacientes que experimentan quimioterapias o radioterapias que habitualmente provocar la pérdida del cabello. Inhibiendo la progresión del ciclo celular durante dichas terapias, el presente tratamiento puede proteger a las células del folículo capilar de la muerte que de otro modo podría resultar de la activación de los programas de muerte celular. Después de que haya concluido la terapia, el presente procedimiento también puede retirarse con el alivio concomitante de la inhibición de la proliferación de las células foliculares.

El presente procedimiento también puede usarse para inhibir la actividad de señalización Hh en el tratamiento de foliculitis, tal como foliculitis decalvante, foliculitis uleritematosa reticulada o foliculitis queloide. Por ejemplo, puede aplicarse de forma tópica una preparación cosmética de un presente compuesto en el tratamiento de pseudofoliculitis, un trastorno crónico que sucede más frecuentemente en la región submandibular del cuello y está asociado con el afeitado, cuyas lesiones características son pápulas y pústulas eritematosas que contienen vellos enterrados.

En otro aspecto de la invención, el presente procedimiento para inhibir la señalización Hh puede usarse para inducir la diferenciación y/o para inhibir la proliferación de derivados tisulares epiteliales. Dichas formas de estas moléculas pueden proporcionar una base para terapia de diferenciación para el tratamiento de afecciones hiperplásicas y/o neoplásicas que implican tejido epitelial. Por ejemplo, dichas preparaciones pueden usarse para el tratamiento de enfermedades cutáneas en las que existe una proliferación o crecimiento anormal de las células de la piel.

Por ejemplo, las preparaciones farmacéuticas de la invención están destinadas para el tratamiento de afecciones epidérmicas hiperplásicas, tales como queratosis, así como para el tratamiento de afecciones epidérmicas neoplásicas tales como las caracterizadas por una elevada tasa de proliferación para diversos cánceres cutáneos, como por ejemplo carcinoma de células basales o carcinoma de células escamosas. El presente procedimiento también puede usarse en el tratamiento de enfermedades autoinmunes que afectan a la piel, en particular, de enfermedades dermatológicas que implican proliferación mórbida y/o queratinización de la epidermis, como por ejemplo, causadas por psoriasis o dermatosis atópica.

Muchas enfermedades comunes de la piel, tales como psoriasis, carcinoma de células escamosas, queratoacantoma y queratosis actínica se caracterizan por una proliferación y crecimiento localizados anormales. Por ejemplo, en la psoriasis, que se caracteriza por placas elevadas, rojas, escamosas en la piel: se sabe que los queratinocitos proliferan mucho más rápidamente de lo normal y que se diferencian menos completamente.

En una realización, las preparaciones de la presente invención son adecuadas para el tratamiento de enfermedades dermatológicas ligadas a trastornos de queratinización que causan proliferación anormal de células cutáneas, trastornos que pueden estar marcados por componentes inflamatorios o no inflamatorios. Para ilustrar, las preparaciones terapéuticas de un presente compuesto, por ejemplo, que promueve la quiescencia o diferenciación, pueden usarse para tratar diversas formas de psoriasis, cutánea, de la mucosa o ungueal. La psoriasis, como se ha descrito anteriormente, se caracteriza normalmente por queratinocitos epidérmicos que presentan una marcada activación proliferativa y diferenciación a lo largo de una vía "regenerativa". El tratamiento con una realización antiproliferativa del presente procedimiento puede usarse para invertir la activación epidérmica patológica y puede proporcionar una base para la remisión sostenida de la enfermedad.

Diversas otras lesiones queratósicas son también candidatas para el tratamiento con el presente procedimiento. Las queratosis actínicas, por ejemplo, son tumores premalignos inflamatorios superficiales que aparecen en piel expuesta al sol e irradiada. Las lesiones son eritematosas a marrones con escamación variable. Las terapias actuales incluyen cirugía de escisión y criocirugía. Sin embargo, estos tratamientos son dolorosos, y a menudo producen una cicatrización inaceptable desde el punto de vista cosmético. Por consiguiente, el tratamiento de la queratosis, tal como la queratosis actínica, puede incluir la aplicación, preferentemente tópica, de la composición de un presente compuesto en cantidades suficientes para inhibir la hiperproliferación de células epidérmicas/epidermoides de la lesión.

El acné representa otra enfermedad dermatológica más que puede tratarse por el presente procedimiento. El acné vulgar, por ejemplo, es una enfermedad multifactorial que sucede más habitualmente en adolescentes y adultos jóvenes, y se caracteriza por la aparición de lesiones inflamatorias y no inflamatorias en la cara y el tronco superior. El defecto básico que da lugar al acné vulgar es la hipercornificación del conducto de una glándula sebácea hiperactiva. La hipercornificación bloquea la movilidad normal de la piel y los microorganismos foliculares, y al hacer esto, estimula la liberación de lipasas por parte de las bacterias Propinobacterium acnes y *Staphylococcus epidermidis* y *Pitrosporum ovale*, una levadura. El tratamiento con un presente compuesto antiproliferativo, particularmente preparaciones tópicas, puede ser útil para prevenir las características de transición de los conductos, por ejemplo la hipercornificación, que conduce a la formación de lesiones. El presente tratamiento puede incluir adicionalmente, por ejemplo, antibióticos, retinoides y antiandrógenos.

La presente invención también facilita un procedimiento para tratar diversas formas de dermatitis. La dermatitis es un término descriptivo que hace referencia a lesiones mal delimitadas que son pruríticas, eritematosas, escamosas, ampolladas, supurantes, agrietadas o costrosas. Estas lesiones surgen de cualquiera de una amplia diversidad de

causas. Los tipos más comunes de dermatitis son dermatitis atópica, por contacto y por el uso de pañales. Por ejemplo, la dermatitis seborreica es una dermatitis crónica, habitualmente prurítica, con eritema, escamación seca, húmeda o grasienta, y partes costrosos amarillos en diversas áreas, especialmente el cuero cabelludo, con exfoliación de una cantidad excesiva de escamas secas. El presente procedimiento también puede usarse en el tratamiento de dermatitis por estasis, una dermatitis habitualmente eccematosa, a menudo crónica. La dermatitis actínica es dermatitis que se debe a la exposición a radiación actínica tal como la del sol, ondas ultravioleta o radiación x o gamma. De acuerdo con la presente invención, el presente procedimiento puede usarse en el tratamiento y/o prevención de ciertos síntomas de dermatitis causados por proliferación indeseada de células epiteliales. Dichas terapias para estas diversas formas de dermatitis también pueden incluir corticosteroides, antipuríticos, y antibióticos tópicos y sistémicos.

Las dolencias que puede tratar el presente procedimiento son trastornos específicos para no humanos, tales como sarna.

Ptc, hedgehog, y smoothened están aparentemente implicadas en el control del desarrollo de células madre responsables de la formación del tracto digestivo, el hígado, los pulmones, y otros órganos que deriven del intestino primitivo. Shh sirve como señal desde el endodermo al mesodermo, que es crítico para la morfogénesis del intestino. Por lo tanto, por ejemplo, los compuestos del presente procedimiento pueden emplearse para regular el desarrollo y mantenimiento de un hígado artificial que puede tener múltiples funciones metabólicas de un hígado normal. En una realización ejemplar, el presente procedimiento puede usarse para regular la proliferación y diferenciación de células madre del tubo digestivo para formar cultivos de hepatocitos que pueden usarse para poblar matrices extracelulares o que pueden encapsularse en polímeros biocompatibles, para formar hígados artificiales tanto implantables como extracorpóreos.

Procedimientos de control

En ciertas realizaciones del procedimiento, se controlan los niveles de antígeno específico prostático (PSA). La exploración PSA es actualmente el único mejor ensayo para cáncer de próstata, aunque algunos hombres con cáncer de próstata pueden tener niveles normales de PSA. El PSA es un excelente marcador para el seguimiento de pacientes con cáncer de próstata establecido.

El PSA es una glucoproteína monacatenaria con un peso molecular de 34.000 Da. Se produce en el epitelio del conducto prostático, se secreta en los conductos prostáticos, y después se concentra en el plasma seminal. En suero, el PSA llega a la circulación propagándose a través del estroma prostático.

Los niveles séricos de PSA aumentan con la edad. El límite superior tradicional de los niveles de intervalo de referencia de PSA es 4 ng/ml, pero pueden usarse los niveles de intervalo de referencia de PSA específicos de edad concebidos por Oesterling y col. Los niveles de intervalo de referencia de PSA relacionados con la edad son los siguientes:

Pacientes con edades de 40-49 años, 0-2,5 ng/ml
Pacientes con edades de 50-59 años, 0-3,5 ng/ml
Pacientes con edades de 60-69 años, 0-4,5 ng/ml
Pacientes con edades de 70-79 años, 0-6,5 ng/ml
El PSA se produce por tejido prostático tanto anormal como normal. Una elevación moderada del nivel de PSA (4-10 ng/ml) tiene una baja especificidad por cáncer de próstata. Algunos hombres con cáncer de próstata tienen niveles de PSA en el intervalo de referencia. Un nivel elevado de PSA no es específico de cáncer de próstata, y niveles séricos elevados de PSA también pueden estar asociados con prostatitis, infarto prostático, PIN, biopsia de próstata, resección transuretral de la próstata, y cateterización uretral.

Kits o sistemas farmacéuticos

Los presentes compuestos y composiciones pueden integrarse en kits o sistemas farmacéuticos para su uso en tratamientos de afecciones que requieren inhibición de la actividad de la vía Hedgehog. Los kits o sistemas farmacéuticos de acuerdo con este aspecto de la invención incluyen un compuesto antagonista de hedgehog de acuerdo con la presente invención (por ejemplo, un compuesto de la Tabla 1, tal como itraconazol), preferentemente en forma de dosificación unitaria. El compuesto puede presentarse junto con un disolvente, vehículo, excipiente o similar, farmacéuticamente aceptable, como se describe en el presente documento.

Los kits o sistemas farmacéuticos de la invención también pueden incluir instrucciones asociadas para usar los compuestos de la invención para tratar afecciones relacionadas con actividad anormal o aberrante de la vía Hedgehog. Las instrucciones generalmente incluirán información acerca del uso del compuesto para el tratamiento de una enfermedad o trastorno o síntomas del mismo asociados con la angiogénesis; en realizaciones preferidas, las instrucciones incluyen al menos uno de lo siguiente: descripción del compuesto inhibidor de la angiogénesis; programa de dosificación y administración para el tratamiento de una enfermedad o trastorno o síntomas del mismo asociados con actividad anormal o aberrante de la vía Hedgehog; precauciones; advertencias; indicaciones; contraindicaciones; información de sobredosis; reacciones adversas; farmacología animal; estudios clínicos; y/o referencias. Las instrucciones pueden imprimirse directamente en el recipiente (cuando está presente), o como una

etiqueta aplicada al recipiente, o como una hoja, folleto, tarjeta o carpetilla individual suministrada en o con el recipiente.

El kit también puede incluir uno o más medios de recipiente, tales como viales, tubos, ampollas, frascos y similares, para contener el compuesto (y opcionalmente portado dentro de un medio portador, tal como una caja, caja de cartón, tubo o similar). Dichos recipientes pueden fabricarse de plástico, vidrio, papel laminado, papel metalizado, u otros materiales adecuados para contener medicamentos.

Tratamiento con itraconazol en modelos de cáncer de próstata

Las pruebas de un papel crítico de la actividad continua de la vía Hh en crecimiento canceroso provienen de la capacidad de la ciclopamina, un potente antagonista de la vía de señalización Hedgehog (Hh) [4,7,13], de inhibir el crecimiento canceroso en modelos animales de neoplasias que surgen en tejidos tales como los pulmones, el páncreas, el tracto biliar, la próstata, la piel, y el cerebro [2,3,9,15,17].

Previamente se ensayó una biblioteca de fármacos en seres humanos para agentes que antagonicen la señalización Hedgehog. Esta biblioteca actualmente contiene ~2400 compuestos que han seguido al menos hasta pruebas de Fase II en ensayos clínicos en seres humanos, e incluye muchos fármacos aprobados por la FDA, y es varias veces más grande que cualquier otra biblioteca conocida disponible para los investigadores académicos (véase, por ejemplo, la publicación PCT Nº WO2006/004795, incorporada en el presente documento por referencia). En trabajos previos, se ensambló y exploró una biblioteca de 40.000 moléculas pequeñas sintéticas, y se identificaron aproximadamente quince familias de compuestos con potencias submicromolares en la inhibición de la vía Hh [5]. Los ensayos usados para la exploración de antagonistas de la vía Hh procedió esencialmente como se describe en la referencia 5. En resumen, cada compuesto candidato se añadió a 10 uM a un ensayo de señalización Sonic hedgehog (Shh) basado en células cultivadas en formato de alto rendimiento. Este ensayo utilizó células con un indicador de luciferasa de luciérnaga integrado de forma estable que es sensible a señalización ShhN. Estas células también contienen un gen de luciferasa de Renilla expresado de forma constitutiva, integrado de forma estable que puede usarse para la normalización de la respuesta a Shh, y usarse también para controlar la muerte celular. Los niveles de luciferasa de Renilla varían ligeramente, unos pocos fármacos de la biblioteca son citotóxicos, aunque la mayoría de los fármacos no afectan significativamente a la muerte celular. Una vez se identificaron los aciertos iniciales a 10 uM, se realizaron titulaciones adicionales de los fármacos candidatos para determinar sus valores de CI_{50} en la inhibición de la vía. La siguiente Tabla 1 muestra una lista de estos aciertos y su valor de CI_{50}.

Número	Nombre del fármaco	CI50	¿Aprobado por la FDA?
1	SALINOMICINA, SÓDICA de *Streptomyces Albus* J Antibiotics 27:814 (1954)	<0,1 uM	
2	OLIGOMICINA (mostrado A) Terapia felina: antibiótico, antifúngico	<0,1 uM	
3	Colchicina	<0,1 uM	S
4	Resina podophyllum	<0,1 uM	S
5	Anisomicina	<0,1 uM	S
6	Aceite crotón	<0,1 uM	S
7	Jarabe Ipecac	<0,1 uM	S
8	Vindesina	<0,1 uM	INN, BAN
9	Sulfato de vincristina	<0,1 uM	S
10	Demecolcina	<0,1 uM.	INN; BAN; DCF; MI.
11	Tartrato de vinorelbina	<0,1 uM	S
12	SUCCINATO DE LOXAPINA Terapia felina: antipsicótico	0,1 uM~0,3 uM	
13	Ciproheptadina	0,1 uM~0,3 uM	S
14	Itraconazol	0,3 uM	S
15	COLCHICEÍNA antimitótico de *Colchicum autumnale* Col Czech Chem Commun 19: 805 (1954)	0,3 uM~1 uM	

(continuación)

Número	Nombre del fármaco	CI50	¿Aprobado por la FDA?
16	MALEATO DE PIMETIXENO Terapia felina H1-antihistamina	0,3 uM~1 uM	
17	Diaziquona	0,3 uM~1 uM	INN
18	Sulfisomidina	0,3 uM~1 uM	S
19	Cicloheximida	0,3 uM~1 uM	INN
20	Ciclopamina	0,3 uM~1 uM	N
21	Aceite de hígado de bacalao	0,3 uM~1 uM cercana a 0,3 uM	S
22	METOXIVONA Terapia felina: anabólico	0,3 uM~1 uM cercana a 1 uM	
23	CLORHIDRATO DE PROMETAZINA Terapia felina: antihistamínico	0,3 uM~1 uM cercana a 1 uM	
24	SULFAQUINOXALINA SÓDICA Terapia felina: antibacteriano	0,3 uM~1 uM cercana a 1 uM	
25	Sulfato de vinblastina AND 1545	0,3 uM~1 uM cercana a 1 uM	S
26	Hidroxizina	0,3 uM~1 uM cercana a 1 uM	S
27	Eucaliptol (Cineola)	0,3 uM~1 uM cercana a 1 uM	S
28	ROTENONA Terapia felina acaricida, ectoparasiticida inhibe la oxidación de NADH2 en NAD	1 uM~3 uM	
29	CLORHIDRATO DE FENOXIBENZAMINA Terapia felina bloqueante alfa adrenérgico	1 uM~3 uM	
30	5-AZACITIDINA Terapia felina: Antineoplásico antimetabolito de pirimidina: inhibe la replicación de ácidos nucleicos	1 uM~3 uM	
31	CLORHIDRATO DE W-7 Terapia felina: antagonista de calmodulina	1 uM~3 uM	
32	DIHIDROARTEMISININA Terapia felina: antipalúdico, anti-inflamatorio Med Res Rev 7: 29 (1987)	1 uM~3 uM	
33	Clomipramina	1 uM~3 uM	S
34	Clorhidrato de raloxifeno	1 uM~3 uM	S
35	Sal mesilato de doxazosina	1 uM~3 uM	S
36	Sal difosfato de cloroquina	1 uM~3 uM	S
37	Imipramina	1 uM~3 uM	S
38	Tioridazina	1 uM~3 uM	S
39	Clotiapina	1 uM~3 uM	INN, BAN, JAN
40	Zolantidina	1 uM~3 uM	N

(continuación)

Número	Nombre del fármaco	CI50	¿Aprobado por la FDA?
41	ACETATO DE CRASINA antiviral, constituyente de numerosos gorgónidos; mp 123-125 Rec Trav Chem 88: 1413	1 uM~3 uM cercana a 1 uM	
42	ÉTER BENCÍLICO DE ESTRIOL Terapia felina: estrógeno	1 uM~3 uM cercana a 1 uM	
43		1 uM~3 uM cercana a 1 uM	
44	Cloruro de manganeso	1 uM~3 uM cercana a 1 uM	S
45	N-mostaza de flufenazina (SKF-7171A)	1 uM~3 uM cercana a 1 uM	ANÁLOGO
46	Aceite de almendra	1 uM~3 uM cercana a 1 uM	S
47	CLORHIDRATO DE PROMAZINA Terapia felina: antipsicótico	1 uM~3 uM cercana a 3 uM	
48	ACETATO DE ESTRADIOL Terapia felina: estrógeno	1 uM~3 uM cercana a 3 uM	
49	MALEATO DE TRIMIPRAMINA Terapia felina: antidepresivo	1 uM~3 uM cercana a 3 uM	
50	3-benzoato de estradiol	1 uM~3 uM cercana a 3 uM	S
51	Acetato de cobre (II)	1 uM~3 uM cercana a 3 uM	
52	Amitriptilina	1 uM~3 uM cercana a 3 uM	S
53	Clorquinaldol (5,7-dicloro-2-metil-8-quinalinol)	3 uM	S

Como se muestra en la Figura 1A, el tratamiento con itraconazol a dos dosis (25 y 37,5 mg/kg) fue tan eficaz como la ciclopamina para prolongar la supervivencia en el modelo AT6,3 Dunning durante todo el periodo experimental de duración mensual, mientras que los ratones tratados con control murieron en aproximadamente 2 semanas. De manera similar, el tratamiento con itraconazol a 37,5 mg/kg fue tan eficaz como la ciclopamina para producir una regresión completa y duradera de los xenoinjertos 22RV1, mientras que la dosis inferior (25 mg/kg) solamente ralentizó el crecimiento del tumor en comparación con el tratamiento de control (Figura 1B). Por tanto, es posible que el itraconazol y otros agentes farmacéuticos que interfieren con la actividad de transducción de señales Hedgehog de hedgehog, ptc, smoothened, u otros componentes de la vía sean asimismo capaces de inhibir la proliferación (u otras consecuencias biológicas) en células normales y/o células que tienen un fenotipo de pérdida de función de patched, un fenotipo de aumento de función de hedgehog o un fenotipo de aumento de función de smoothened.

Otras realizaciones

A partir de la descripción anterior, será evidente que pueden hacerse variaciones y modificaciones a la invención descrita en el presente documento para adaptarla a diversos usos y condiciones.

Referencias

1. Beachy, P. A., Karhadkar, S. S. y Berman, D. M. (2004). Tissue repair and stem cell renewal in carcino genesis. Nature 432, 324-31.

2. Berman, D. M., Karhadkar, S. S., Hallahan, A. R., Pritchard, J. I., Eberhart, C. G., Watkins, D. N., Chen, J. K., Cooper, M. K., Taipale, J., Olson, J. M. y Beachy, P. A. (2002). Medulloblastoma growth inhibition by hedgehog pathway blockade. Science 297, 1559-61.

3. Berman, D. M., Karhadkar, S. S., Maitra, A., Montes De Oca, R., Gerstenblith, M. R, Briggs, K., Parker, A. R, Shimada, Y., Eshleman, J. R., Watkins, D. N. y Beachy, P. A. (2003). Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. Nature 425, 846-51.

4. Chen, J. K., Taipale, J., Cooper, M. K. y Beachy, P. A. (2002). Inhibition of Hedgehog signaling by direct binding of cyclopamine to Smoothened. Genes Dev 16, 2743-8.

5. Chen, J. K., Taipale, J., Young, K. E., Maiti, T. y Beachy, P. A. (2002). Small molecule modulation of Smoothened activity. Proc Natl Acad Sci USA 99, 14071-6.

6. Chemy, R. A., Atwood, C. S., Xilinas, M. E., Gray, D. N., Jones, W. D., McLean, C. A., Barnham, K. J., Volitakis, I., Fraser, F. W., Kim, Y., Huang, X., Goldstein, L. E., Moir, R. D., Lim, J. T. y col. (2001). Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits beta-amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. Neuron 30, 665-76.

7. Cooper, M. K., Porter, J. A., Young, K. E. y Beachy, P. A. (1998). Plant-derived and synthetic teratogens inhibit the ability of target tissues to respond to Sonic hedgehog signaling. Science 280, 1603-1607.

8. Fan, L., Pepicelli, C. V., Dibble, C. C., Catbagan, W., Zarycki, J. L., Laciak, R, Gipp, J., Shaw, A., Lamm, M. L., Munoz, A., Lipinski, R., Trasher, J. B. y Bushman, W. (2004). Hedgehog signaling promotes prostate xenograft tumor growth. Endocrinology 145, 3961-70.

9. Karhadkar, S. S., Bova, G. S., Abdallah, N., Dhara, S., Gardner, D., Maitra, A., Isaacs, J. T., Berman, D. M. y Beachy, P. A. (2004). Hedgehog signaling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis. Nature 431, 707-12.

10. Romer, J. T., Kimura, H., Magdaleno, S., Sasai, K., Fuller, C., Baines, H., Connelly, M., Stewart, C. F., Gould, S., Rubin, L. L. y Curran, T. (2004). Suppression of the Shh pathway using a small molecule inhibitor eliminates medulloblastoma in Ptcl +/-p53-/- mice. Cancer Cell 6, 229-240.

11. Sanchez, P., Hernandez, A. M., Stecca, B., Kahler, A. J., DeGueme, A. M., Barrett, A., Beyna, M., Datta, M. W., Datta, S. y Ruiz i Altaba, A. (2004). Inhibition of prostate cancer proliferation by interference with SONIC HEDGEHOG-GLI1 signaling. Proc Natl Acad Sci USA 101, 12561-6.

12. Sheng, T., Li, C., Zhang, X., Chi, S., He, N., Chen, K., McCormick, F., Gatalica, Z. y Xie, J. (2004). Activation of the hedgehog pathway in advanced prostate cancer. Mol Cancel 3, 29.

13. Taipale, J., Chen, J. K., Cooper, M. K., Wang, B., Mann, R. K., Milenkovic, L., Scott, M.P. y Beachy, P. A. (2000). Effects of oncogenic mutations in Smoothened and Patched can be reversed by cyclopamine. Nature 406, 1005-9.

14. Taipale, J. y Beachy, P. A. (2001). The Hedgehog and Wnt signaling pathways in cancer. Nature 411, 349-54.

15. Thayer, S. P., Di Magliano, M. P., Heiser, P. W., Nielsen, C. M., Roberts, D. J., Lauwers, G. Y., Qi, Y. P., Gysin, S., Fernandez-Del Castillo, C., Yajnik, V., Antoniu, B., McMahon, M., Warshaw, A. L. y Hebrok, M. (2003). Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. Nature 425, 851-6.

16. Tiffert, T., Ginsburg, H., Krugliak, M., Elford, B. C. y Lew, V. L. (2000). Potent antimalarial activity of clotrimazole in in vitro cultures of Plasmodium falciparum. Proc Natl Acad Sci U S A 97, 331-6.

17. Watkins, D. N., Berman, D. M., Burkholder, S. G., Wang, B., Beachy, P. A. y Baylin, S. B. (2003). Hedgehog signaling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. Nature 422, 313-7.

18. Williams, J. A., Guicherit, O. M., Zaharian, B. I., Xu, Y., Chai, L., Wichterle, H., Kon, C., Gatchalian, C., Porter, J. A., Rubin, L. L. y Wang, F. Y. (2003). Identification of a small molecule inhibitor of the hedgehog signaling pathway: Effects on basal cell carcinoma-like lesions. Proc Natl Acad Sci US A 100, 4616-21.

19. Zhu, S., Stavrovskaya, I. G., Drozda, M., Kim, B. Y., Ona, V., Li, M., Sarang, S., Liu, A. S., Hartley, D. M., Wu du, C., Gullans, S., Ferrante, R. J., Przedborski, S., Kristal, B. S. y col. (2002). Minocycline inhibits cytochrome c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. Nature 417, 74-8.

20. Dahmane y col. (1997) Nature 389(6653):876-881.

21. Mann RK y Beachy PA. (2004) Ann Rev Biochem (73): 891-923.

22. Cooper MK, Wassif CA, Krakowiak PA, Taipale J, Gong R, Kelley RI, Porter FD, Beachy PA. (2003) Nature Genetics. 33: 508-513.

REIVINDICACIONES

1. Salinomicina sódica, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en un sujeto en la inhibición de la actividad de la vía Hedgehog relacionada con cáncer.

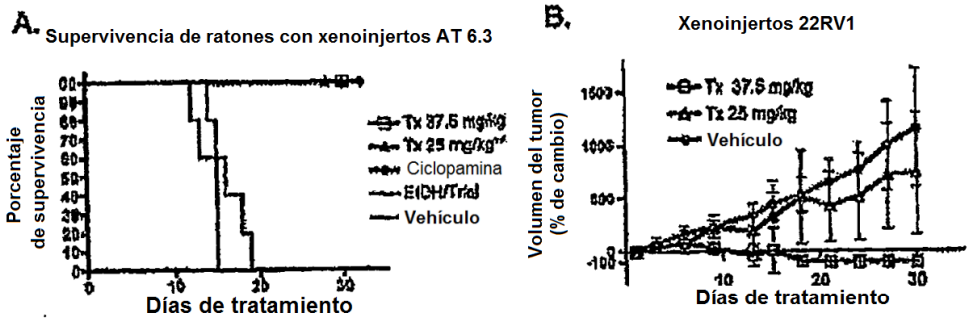
2. Salinomicina sódica, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, opcionalmente en combinación con una segunda forma de terapia, para su uso en un sujeto en el tratamiento de un trastorno relacionado con enfermedades mediadas por la vía Hedgehog seleccionado entre cáncer.

3. Salinomicina sódica, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en las células en la inhibición de la actividad de la vía Hedgehog relacionada con cáncer.

4. Salinomicina sódica, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 2, en la que el sujeto es un mamífero incluyendo un ser humano.

5. Un kit que comprende salinomicina sódica en forma de dosificación unitaria para su uso en el tratamiento de una enfermedad mediada por la vía Hedgehog relacionada con cáncer.

Figura 1


A.
Supervivencia de ratones con xenoinjertos AT 6.3
Porcentaje de supervivencia
Tx 37.5 mg/kg
Tx 25 mg/kg
Ciclopamina
Vehículo
Días de tratamiento
B.
Xenoinjertos 22RV1
Volumen del tumor (% de cambio)
Tx 37.5 mg/kg
Tx 25 mg/kg
Vehículo
Días de tratamiento