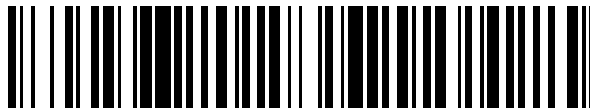


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 521 676**

51 Int. Cl.:

**C07D 213/61** (2006.01)

**A61K 31/44** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2009 E 09794969 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.09.2014 EP 2307367**

54 Título: **Nuevos agentes inhibidores de la proliferación y de la activación de transductores de señales y activadores de la transcripción (STATS)**

30 Prioridad:

**08.07.2008 US 79002 P**

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

**13.11.2014**

73 Titular/es:

**BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM (100.0%)  
201 West 7th Street  
Austin, TX 78701, US**

72 Inventor/es:

**PRIEBE, WALDEMAR;  
SKORA, STANISLAW;  
MADDEN, TIMOTHY;  
FOKT, IZABELA y  
CONRAD, CHARLES**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 521 676 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

Nuevos agentes inhibidores de la proliferación y de la activación de transductores de señales y activadores de la transcripción (STATS)

### CAMPO DEL INVENTO

- 5 Se proporcionan en el presente texto unos compuestos y unas composiciones de piridina y su aplicación como agentes farmacéuticos destinados a su uso en el tratamiento de enfermedades tales como un cáncer.

### ANTECEDENTES DEL INVENTO

10 Se conoce que la ruta de señalización Jak/STAT es activada en un cierto número de cánceres y de enfermedades inflamatorias. Cuando ha sido activado por medio de la fosforilación de un único residuo de tirosina, un STAT3 se dimeriza, se cambia de colocación (= transloca) al núcleo y sirve como un factor de transcripción que impulsa la regulación en sentido ascendente de un cierto número de genes proliferativos y promotores de la supervivencia, que incluyen a los de survivina, VEGF, Bcl-2 y Bcl-xL. Se conoce que estos productos génicos favorecen el crecimiento y la metástasis de más 20 tipos de tumores y también están asociados con la promoción de diversos trastornos cutáneos proliferativos, que incluyen psoriasis, linfoma de células T y dermatitis atópica.

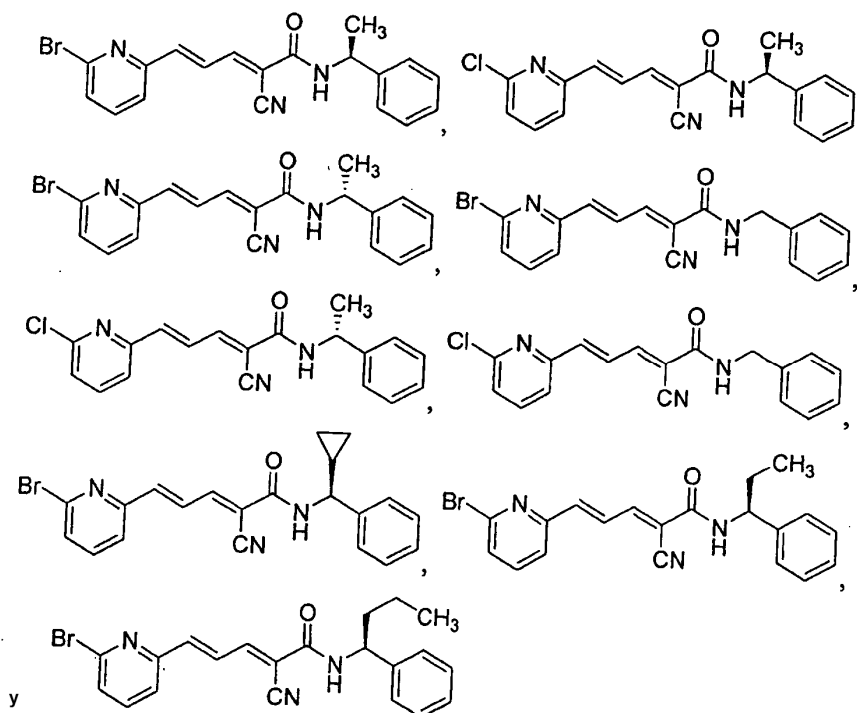
15 La inhibición de la fosforilación de los STAT3 en animales portadores de tumores conduce a la inducción de una muerte apoptótica de las células y, en modelos ortotópicos preclínicos de diversas enfermedades, a una reducción significativa en el tamaño de los tumores. Similarmente, en unas enfermedades cutáneas inflamatorias la inhibición de la fosforilación de los STAT3 conduce a la resolución de placas, costras y otras lesiones asociadas.

20 Aunque actualmente es deseable el desarrollo de unos agentes inhibidores de esta ruta, se han experimentado con resultados insatisfactorios una diversidad de enfoques de inhibición (tal como los de moléculas pequeñas, antisentido o iRNA).

25 El documento de solicitud de patente de los EE.UU. US 2006/0058297 divulga unos compuestos que son útiles para modular una proliferación anormal de las células. El documento US 2007/0232668 divulga unos fármacos anticancerosos relacionados con el ácido cafeico, que están biodisponibles por vía oral, y el documento de solicitud de patente internacional WO 2005/058829 divulga unos compuestos que están destinados al tratamiento de enfermedades proliferativas de las células.

### SUMARIO DEL INVENTO

30 Se han encontrado unos nuevos compuestos de piridina y unas nuevas composiciones farmacéuticas que inhiben a un cáncer, juntamente con unos métodos de sintetizar y usar a los compuestos destinados a su uso en el tratamiento de enfermedades y condiciones mediadas por los STAT3 en un paciente por administración de los compuestos. Los compuestos pueden ser también ser aptos para su uso en el tratamiento de enfermedades y condiciones que son mediadas por los STAT5. Estos compuestos tienen una fórmula estructural seleccionada entre el conjunto que se compone de:



Los compuestos que aquí se describen poseen una útil actividad inhibitoria de los STAT3 y pueden ser aptos para su uso en el tratamiento o la profilaxia de una enfermedad o condición en la que un STAT3 desempeña un cometido activo. Por consiguiente, en un aspecto amplio, se describen unas composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos del presente invento, juntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable, así como unos métodos de producir y usar los compuestos y las composiciones.

Además, estos compuestos que aquí se presentan se pueden usar en la producción de un medicamento destinado al tratamiento de una enfermedad o condición que es mejorada por la modulación de la activación de los STAT3 o de los STAT5, que se selecciona entre el conjunto que se compone de cánceres, condiciones angiogénicas proliferativas, trastornos cutáneos proliferativos, enfermedades del sistema nervioso central, trastornos inflamatorios y enfermedades autoinmunitarias.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

El precedente sumario así como la siguiente detallada de la forma preferida de realización del invento se comprenderá mejor cuando se lea en conjunción con los dibujos anejos. Deberá de entenderse, sin embargo, que el invento no está limitado a las disposiciones y a los arbitrios instrumentales precisas/os que aquí se muestran.

Para obtener una comprensión más completa del presente invento, y de las ventajas del mismo, se hace ahora referencia a las siguientes descripciones que se toman en conjunción con los dibujos anejos, en los que:

La Figura 1 consiste en unos datos de experimentación que muestran la inhibición de la fosforilación de los STAT3 por el compuesto del Ejemplo 1 en el linaje de células de tumor Colo357FG.

La Figura 2 proporciona un mapa de los datos que muestran la falta de supervivencia de las células del tumor cerebral U87 después de la administración de los compuestos del Ejemplo 2 y del Ejemplo 4.

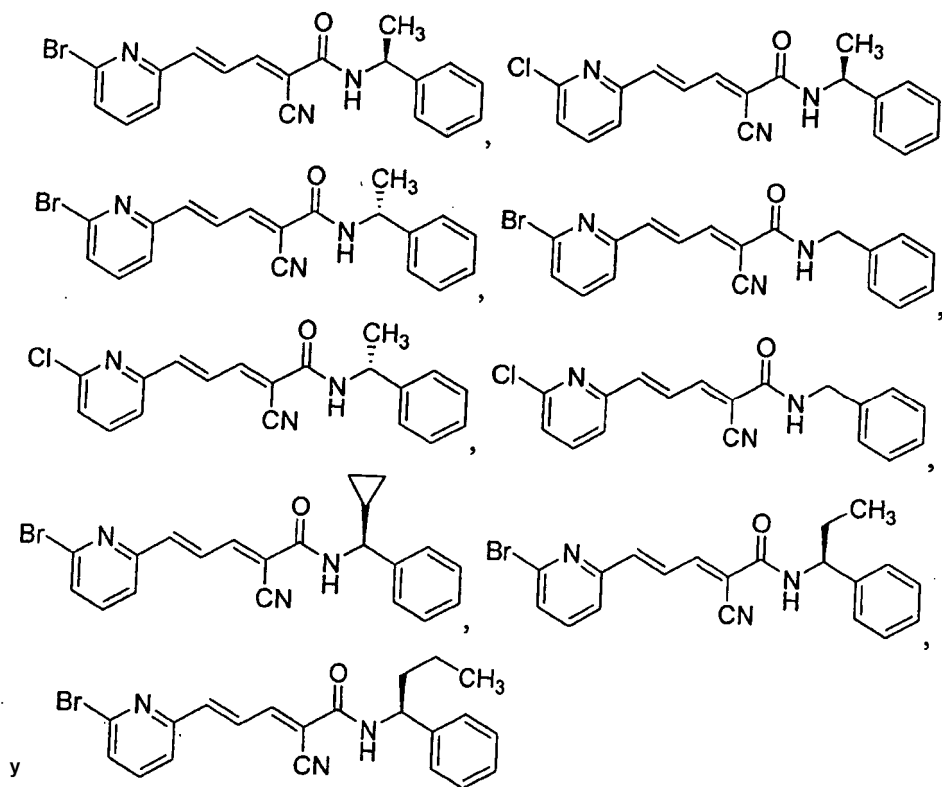
La Figura 3 reproduce los datos que representan la inhibición del crecimiento de las células del cáncer de ovario SCOV3 después de la administración de los compuestos del Ejemplo 2 y del Ejemplo 4.

La Figura 4 consiste en unos datos acerca del compuesto del Ejemplo 9, que inhibe constitutivamente la fosforilación con IL-2 de los STAT-3 en linajes de células del tumor cerebral D54.

La Figura 5 es una representación esquemática de las rutas de señalización que conducen a una activación de los STAT y a una expresión génica mediada por los STAT.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los compuestos aquí presentados tienen una fórmula estructural seleccionada entre el conjunto que se compone de



5 El concepto de "sales farmacéuticamente aceptables", como se usa en el presente contexto, se refiere a unas sales de compuestos de este invento, que son sustancialmente no tóxicas para organismos vivos. Unas típicas sales farmacéuticamente aceptables incluyen a las sales que se han preparado por la reacción de un compuesto de este invento con un ácido inorgánico u orgánico, o con una base orgánica, dependiendo de los sustituyentes que estén presentes en los compuestos del invento.

10 Unos ejemplos de ácidos inorgánicos que se pueden usar para preparar sales farmacéuticamente aceptables incluyen: ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido fosforoso y otros similares. Unos ejemplos de ácidos orgánicos que se pueden usar para preparar unas sales farmacéuticamente aceptables incluyen: unos ácidos mono- y dicarboxílicos alifáticos, tales como ácido oxálico, ácido carbónico, ácido cítrico, ácido succínico, unos ácidos alcanoicos sustituidos con fenilo y con heteroátomos, unos ácidos sulfúricos alifáticos y aromáticos, y otros similares. Unas sales farmacéuticamente aceptables que se preparan a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos incluyen, por lo tanto, las sales hidrocioruro, hidrobromuro, 15 nitrato, sulfato, piro-sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfato, fosfato, monohidrógenofosfato, dihidrógenofosfato, metafosfato, pirofosfato, hidroyoduro, hidrofioruro, acetato, propionato, formiato, oxalato, citrato, lactato, p-toluenosulfonato, metanosulfonato, maleato, y otros similares. Otras sales apropiadas son conocidas por una persona que posee experiencia ordinaria en la especialidad.

20 Unas apropiadas sales farmacéuticamente aceptables se pueden formar también haciendo reaccionar los agentes del invento con una base orgánica tal como metilamina, etilamina, etanolamina, lisina, ornitina y otras similares. Otras sales apropiadas son conocidas por una persona que posee experiencia ordinaria en la especialidad.

25 Unas sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales que se forman entre unos grupos de carboxilato o sulfonato que se encuentran en algunos de los compuestos de este invento y unos cationes inorgánicos tales como los de sodio, potasio, amonio o calcio, o unos cationes orgánicos, tales como los de isopropilamonio, trimetilamonio, tetrametilamonio e imidazolínio.

Se deberá reconocer que el anión o catión particular que forma parte de cualquiera de las sales de este invento no es crítico, siempre y cuando que la sal, como un conjunto, sea farmacológicamente aceptable y siempre y cuando que el anión o catión no contribuya con cualidades o efectos indeseadas/os. Además, son conocidas por los

5 expertos en la especialidad unas adicionales sales farmacéuticamente aceptables, y éstas se pueden usar dentro del alcance del invento. Unos ejemplos adicionales de sales farmacéuticamente aceptables y de sus métodos de preparación y uso se presentan en la referencia Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use - A Handbook 2002) [Sales farmacéuticas, propiedades, selección y uso - un manual (2002)], que se incorpora a la presente por su referencia.

10 Tal como se usa en el presente contexto, se pretende que el término “paciente” incluya a unos organismos vivos en los que puedan aparecer ciertas condiciones que aquí se describen. Unos ejemplos de éste incluyen seres humanos, animales de especies de monos, vacas, ovejas, cabras, perros, gatos, ratones, ratas y especies transgénicas de los mismos, En una forma de realización preferida, el paciente es un primate. En una forma de realización incluso más preferida, el primate es un ser humano. Otros ejemplos de individuos incluyen unos animales experimentales de las especies de ratones, ratas, perros, gatos, cabras, ovejas, cerdos y vacas. El animal experimental puede ser un modelo de animal para un trastorno, p.ej. un ratón transgénico con una neuropatología del tipo de la enfermedad de Alzheimer. Un paciente puede ser un ser humano que padezca de una enfermedad neurodegenerativa, tal como la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Parkinson.

15 Tal como se usa en el presente contexto, el término “IC<sub>50</sub>” = concentración inhibidora del 50 % se refiere a una dosis inhibidora que es un 50 % de la máxima respuesta obtenida.

Tal como se usa en el presente contexto, el término “soluble en agua” significa que el compuesto se disuelve en agua por lo menos hasta el punto de 0,010 moles/litro o es clasificado como soluble de acuerdo con la precedente bibliografía.

20 Tal como se usa en el presente contexto, el término de “predominantemente un enantiómero” significa que el compuesto contiene por lo menos un 85 % de un enantiómero, o más preferiblemente por lo menos un 90 % de un enantiómero, o incluso más preferiblemente por lo menos un 95 % de un enantiómero, o de manera sumamente preferible por lo menos un 99 % de un enantiómero. Similarmente la frase “sustancialmente exenta de otros isómeros ópticos” significa que la composición contiene a lo sumo un 5 % de otro enantiómero o diastereoisómero, más preferiblemente un 2 % de otro enantiómero o diastereoisómero, y de manera sumamente preferible un 1 % de otro enantiómero o diastereoisómero.

30 Tal como se usa en el presente contexto, en la memoria descriptiva el término “un” o “una” puede significar “uno o más”. Tal como se usa aquí en las reivindicaciones, cuando se usan en conjunción con las palabras “que comprende” o “que tiene”, las palabras “un” o “una” pueden significar “uno o más de uno”. Tal como se usa en el presente contexto, “otro” puede significar por lo menos un segundo elemento o más.

35 Otras abreviaturas que aquí se usan son las siguientes: DMSO, dimetil sulfóxido; iNOS, óxido nítrico sintasa inducible; COX-2, ciclooxigenasa-2; NGF, factor de crecimiento nervioso; IBMX, isobutilmetilxantina; FBS, suero de bovino fetal; GPDH, glicerol 3-fosfato deshidrogenasa; RXR, receptor del retinoide X; TGF-β el factor de crecimiento transformante - β; IFN-γ, interferón-γ; LPS, un lipopolisacárido endotóxico bacteriano; TNF-α, el factor de necrosis tumoral - α; IL-1β, interleucina-1β; GAPDH, gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa; MTT, bromuro de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolio; TCA, ácido tricloroacético; HO-1 hemo oxigenasa inducible.

40 El concepto de “terapia en combinación” significa la administración de dos o más agentes terapéuticos destinados a tratar una condición o un trastorno terapéutica/o que se describe en la presente divulgación. Dicha administración abarca la administración concomitante de estos agentes terapéuticos de una manera sustancialmente simultánea, tal como en una única cápsula que tiene una relación fija de los ingredientes activos o en múltiples cápsulas dispuestas por separado para cada ingrediente activo. Además, dicha administración abarca también el uso de cada tipo de agente terapéutico de una manera secuencial. En cualquiera de los casos, el régimen de tratamiento proporcionará unos efectos beneficiosos de la combinación de fármacos para tratar a las condiciones o los trastornos que aquí se describen.

45 El término “terapéuticamente efectiva” está destinado a cualificar la cantidad de ingredientes activos que se usan en el tratamiento de una enfermedad o de un trastorno. Esta cantidad alcanzará la meta de reducir o eliminar dicha enfermedad o dicho trastorno.

50 El término “terapéuticamente aceptable” se refiere a aquellos compuestos (o sales, profármacos, tautómeros, formas iónicas híbridas, etc) que se adecuan para su uso en contacto con los tejidos de los pacientes sin presentar una indebida toxicidad, irritación y respuesta alérgica, que son conmensurados con una razonable relación de beneficio/riesgo y son efectivos para su uso pretendido.

Como se usa en el presente contexto, se pretende que la referencia a un “tratamiento” de un paciente incluya una profilaxia. El término “paciente” significa todos los mamíferos incluyendo a los seres humanos. Unos ejemplos de los

pacientes incluyen a seres humanos, vacas, perros, gatos, cabras, ovejas, cerdos y conejos. De manera preferible, el paciente es un ser humano.

5 Aunque puede ser posible que los compuestos del presente invento sean administrados en forma del producto químico en bruto, también es posible presentarlos como una formulación farmacéutica. Correspondientemente, el presente invento proporciona una formulación farmacéutica que comprende un compuesto o una sal, un éster, un profármaco o un solvato del mismo, que sea farmacéuticamente aceptable, conjuntamente con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables del mismo y opcionalmente uno o más otros ingredientes terapéuticos. El o los vehículo(s) debe(n) de ser "aceptable(s)" en el sentido de ser compatible(s) con los otros ingredientes de la formulación y no ser perjudicial(es) para su recipiente (es decir para el individuo que los recibe). Una formulación apropiada es dependiente de la ruta de administración que se haya escogido. Cualquiera de las técnicas, de los vehículos y de los excipientes bien conocidos/as se pueden usar como apropiados y como se entiende en la especialidad; p.ej. en la referencia Remington's Pharmaceutical Sciences. Las composiciones farmacéuticas del presente invento se pueden preparar de una manera que es de por sí conocida, p.ej. por medio de unos procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, producción de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o compresión.

10 Las formulaciones incluyen las que son apropiadas para una administración por vía oral, parenteral (incluyendo las vías subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarticular e intramedular), intraperitoneal, transmucosal, transdérmica, rectal y tópica (incluyendo las vías dérmica, bucal, sublingual e intraocular), aun cuando la ruta que ha de ser la más apropiada puede depender, por ejemplo, de la condición y del trastorno en el recipiente. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en una forma de dosificación unitaria y pueden ser preparadas por cualquiera de los métodos que son bien conocidos en la especialidad de farmacia. Todos los métodos incluyen la operación de poner en asociación un compuesto del presente invento o una sal, o un éster, un profármaco o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo ("ingrediente activo") con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan llevando a asociación de una manera uniforme e íntima al ingrediente activo con unos vehículos líquidos o unos vehículos sólidos finamente divididos o con ambos, y luego, si es necesario, conformando el producto a la forma de la formulación deseada.

20 Unas formulaciones apropiadas para la administración por vía oral pueden ser presentadas como unas unidades discretas, tales como cápsulas, sellos (en inglés "cachets") o tabletas, cada una de las cuales contenga una cantidad previamente determinada del ingrediente activo; o como unos polvos o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o en un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida del tipo de aceite en agua o una emulsión líquida del tipo de agua en aceite. El ingrediente activo puede ser presentado también como un bolo, un electuario o una pasta.

30 Unas formulaciones farmacéuticas que se pueden usar por vía oral incluyen tabletas, cápsulas del tipo de ajuste por encaje (en inglés "push-fit") hechas de gelatina, así como cápsulas blandas cerradas herméticamente hechas a base de gelatina y de un agente plastificante tal como glicerol o sorbitol. Las tabletas se pueden producir por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden producir comprimiendo con una máquina apropiada al ingrediente activo en una forma libremente fluente, tal como la de polvos o gránulos, opcionalmente mezclados con agentes aglutinantes, diluyentes inertes, o agentes lubricantes, tensioactivos (= activos superficialmente) o dispersantes. Las tabletas moldeadas se pueden producir moldeando en una máquina apropiada a una mezcla del compuesto pulverulento mojada con un diluyente líquido inerte. Las tabletas pueden opcionalmente ser revestidas o marcadas con muescas y pueden ser formuladas de tal manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo allí presente. Todas las formulaciones destinadas a la administración por vía oral deberían estar en unas dosificaciones apropiadas para dicha administración. Las cápsulas del tipo de ajuste por encaje pueden contener los ingredientes activos en una mezcla con unos materiales de relleno tales como lactosa, con unos agentes aglutinantes tales como almidones y/o con unos agentes lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, con unos agentes estabilizadores. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden ser disueltos o suspendidos en unos líquidos apropiados, tales como unos aceites grasos, una parafina líquida o unos poli(etilen glicoles) líquidos. Además, se pueden añadir unos agentes estabilizadores. Unos núcleos de grageas son provistos de unos revestimientos apropiados. Para esta finalidad, se pueden usar unas soluciones concentradas de azúcares, que opcionalmente pueden contener goma arábiga, talco, una poli(vinilpirrolidona), un gel de carbopol, un poli(etilen glicol) y/o dióxido de titanio, unas soluciones de barnices o lacas y unos apropiados disolventes orgánicos o unas mezclas de disolventes. Se pueden añadir unos colorantes o pigmentos a las tabletas o a los revestimientos de tabletas o grageas para su identificación o para caracterizar a diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

40 Los compuestos pueden ser formulados para una administración por vía parenteral, por inyección, p.ej. mediante la inyección de un bolo o mediante una infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden ser presentadas en una forma de dosificación unitaria, p.ej. en ampollas o en recipientes de múltiples dosis, con un agente conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar unas formas tales como las de suspensiones, soluciones o emulsiones en unos vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener unos agentes de formulación tales como

unos agentes suspendedores, estabilizadores y/o dispersantes. Las formulaciones pueden ser presentadas en unos contenedores para dosis unitarias o para dosis múltiples, por ejemplo en unas ampollas y unos viales que se han cerrado herméticamente, o se pueden almacenar en una forma de polvos o en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere solamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo una solución salina o un agua estéril exenta de pirógenos, inmediatamente antes del uso. Unas soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles de las clases que se han descrito con anterioridad.

Las formulaciones destinadas a una administración por vía parenteral incluyen unas soluciones para inyección estériles (oleosas), acuosas y no acuosas, de los compuestos activos, que pueden contener agentes antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos o solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del individuo recipiente pretendido; y unas suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir unos agentes suspendedores y unos agentes espesantes. Unos apropiados disolventes o vehículos lipófilos incluyen unos ácidos grasos tales como aceite de sésamo, o unos ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo, o unos triglicéridos, o unos liposomas. Unas suspensiones acuosas para inyección pueden contener unas sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como una carboximetil celulosa sódica, el sorbitol o el dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también unos apropiados agentes estabilizadores o unos agentes que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de unas soluciones altamente concentradas.

Unas preferidas formulaciones de dosificación unitaria son las que contienen una dosis efectiva del ingrediente activo, tal como se cita aquí seguidamente, o una fracción apropiada de la misma.

Deberá entenderse que, además de los ingredientes que más arriba se han mencionado particularmente, las formulaciones pueden incluir otros agentes que sean convencionales en la especialidad, teniendo en cuenta el tipo de la formulación en cuestión, por ejemplo los que son apropiados para la administración por vía oral pueden incluir agentes aromatizantes y saboreantes.

Los compuestos que aquí se proporcionan pueden ser administrados de diversos modos, p.ej. por vía oral, por vía tópica o por inyección. La cantidad exacta del compuesto que se administra a un paciente será la responsabilidad del médico de cabecera. El nivel de dosis que sea específico para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico que se emplee, de la edad, del peso corporal, del estado general de salud, del sexo, de las dietas, del período de tiempo de administración, de la ruta de administración, de la tasa de excreción, de la combinación de fármacos, y del trastorno exacto que está siendo tratado, y de la gravedad de la indicación o condición que esté siendo tratada. También, la ruta de administración puede variar dependiendo de la condición y de su gravedad.

Dicho brevemente, los compuestos del invento se pueden administrar por vía oral, por vía tópica o por inyección en una dosis de desde 0,1 hasta 500 mg/kg por día. Las tabletas u otras formas de presentación que se proporcionan en unidades discretas, pueden contener convenientemente una cantidad de un compuesto del invento que es eficaz en tal dosificación o como un múltiplo de la misma, por ejemplo unas unidades que contienen desde 5 mg hasta 500 mg.

La cantidad del ingrediente activo, que se puede combinar con los materiales de vehículo para producir una única forma de dosificación, variará dependiendo del anfitrión que esté siendo tratado y del modo particular de la administración.

En ciertos casos, puede ser apropiado administrar por lo menos uno de los compuestos que aquí se describen (o una sal farmacéuticamente aceptable del de los mismos) en combinación con otro agente terapéutico. Solamente por vía de ejemplo, si uno de los efectos colaterales que son experimentados por un paciente después de haber recibido uno de los compuestos del presente texto es una hipertensión, entonces puede ser apropiado administrar un agente antihipertensivo en combinación con el agente terapéutico inicial. O bien, solamente por vía de ejemplo, la efectividad terapéutica de uno de los compuestos que aquí se describen puede ser aumentada por la administración de un agente coadyuvante (es decir, que por sí sólo el agente coadyuvante puede tener solamente un beneficio terapéutico mínimo, pero en combinación con otro agente terapéutico, se aumenta el beneficio terapéutico global para el paciente). O bien, solamente por vía de ejemplo, el beneficio que se experimenta por un paciente puede ser aumentado por la administración de uno de los compuestos que aquí se describen juntamente con otro agente terapéutico (que incluye también un régimen terapéutico) que también tiene un beneficio terapéutico. Solamente por vía de ejemplo, en un tratamiento de un cáncer que implique la administración de uno de los compuestos que aquí se describen, puede resultar un beneficio terapéutico aumentado proporcionando al paciente también otro agente terapéutico para un cáncer. En cualquier caso, independientemente de la enfermedad, del trastorno o de la condición que se esté tratando, el beneficio global experimentado por el paciente puede ser simplemente aditivo de los dos agentes terapéuticos, o el paciente puede experimentar un beneficio sinérgico.

5 En cualquiera de los casos, los múltiples agentes terapéuticos (alguno de los cuales por lo menos es un compuesto que aquí se proporciona) pueden ser administrados en cualquier orden o incluso de una manera simultánea. Si se administran de una manera simultánea, los múltiples agentes terapéuticos pueden ser proporcionados en una única forma unificada o en múltiples formas (solamente por vía de ejemplo, o bien como una única píldora o como dos píldoras por separado). Uno de los agentes terapéuticos puede ser administrado en múltiples dosis, o ambos pueden ser administrados como múltiples dosis. Si no es simultánea, la regulación cronológica entre las dosis múltiples puede ser cualquier período de tiempo que fluctúe entre unos pocos minutos y cuatro semanas.

10 Por lo tanto, el tratamiento de unas enfermedades o condiciones mediadas por los STAT3 (así como de trastornos o condiciones mediados/as por los STAT5) en un individuo humano o animal que necesita de dicho tratamiento, comprende administrar a ese individuo una cantidad de un compuesto que haya sido presentada aquí como efectiva para reducir o prevenir dicho trastorno en el individuo, en combinación con por lo menos un agente adicional para el tratamiento de dicho trastorno que sea conocido en la especialidad. En un aspecto relacionado, las composiciones terapéuticas comprenden por lo menos uno de estos compuestos en combinación con uno o más agentes adicionales destinados a su uso en el tratamiento de trastornos mediados por los STAT3 y STAT5.

15 Los compuestos que aquí se describen pueden ser útiles para el tratamiento de una amplia diversidad de trastornos o condiciones en los/las que se necesite una inhibición o modulación de la ruta de los STAT3. Los compuestos disminuyen y pueden tratar terapéuticamente unas condiciones y enfermedades proliferativas. Los usos de estos compuestos incluyen los compuestos usados como agentes para: disminuir la actividad de los STAT3; la fosforilación de los STAT3; y la expresión de unas proteínas controladas por una activación de la transcripción por un STAT3 activado. Siguiendo estas pautas, los compuestos se pueden usar específicamente como unos agentes para disminuir la cantidad de VEGF, MMP9, MMP2, survivina, c-Myc, MMP-1, MEK-5, c-FOS,1 COX-2, Bcl-xl, MMP-10, HSP-27 y Jmjdla.

20

25 Unos/as trastornos o condiciones que se pueden prevenir o tratar mediante los compuestos que aquí se describen, incluyen la prevención o el tratamiento de cánceres, tal como leucemia de células T con manifestación cutánea, tumores de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer de vesícula, gliomas de alto grado, metástasis cerebral, melanoma, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon, leucemia, el síndrome mielodisplásico (una condición previa a la leucemia) y mieloma múltiple. En general, las metástasis de cualquier tipo de cáncer se pueden prevenir o tratar con los compuestos que aquí se describen. Los compuestos se pueden usar también para prevenir o tratar unas condiciones angiogénicas proliferativas, que incluyen telangiectasias, angiomas venosos y hemangioblastomas.

30

Estos compuestos se pueden usar también para prevenir o tratar unas enfermedades o unos trastornos de tipo proliferativo de la piel, que incluyen dermatitis tóxica, psoriasis y rosácea.

35 Por lo demás, los compuestos que aquí se describen se pueden usar para prevenir o tratar enfermedades del sistema nervioso central (con el acrónimo "SNC") y unas condiciones tales como un SNC inflamatorio y unas condiciones p.ej. esclerosis múltiple y leucoencefalopatía multifocal progresiva.

Por lo demás los compuestos que aquí se describen se pueden usar para prevenir o tratar a unas enfermedades y condiciones inflamatorias tales como osteoartritis, artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa y unas enfermedades autoinmunitarias tales como lupus y una enfermedad autoinmunitaria mixta.

40 Unas enfermedades y condiciones, tales como telangiectasias, angiomas venosos, hemangioblastomas y la policitemia vera se pueden también prevenir o tratar con los compuestos que aquí se describen.

Estos compuestos pueden afectar a la supervivencia y la diferenciación de células madre manteniendo el crecimiento pluripotencial de células madre; p.ej. previniendo la diferenciación de células madre.

45 Los compuestos que aquí se enseñan se pueden usar también para el aumento de una respuesta inmunitaria, particularmente cuando el aumento de la respuesta inmunitaria conduce a la expresión de moléculas concomitantemente estimuladoras en los macrófagos periféricos y en la microglia que se infiltra en tumores. Estos compuestos son también útiles cuando la respuesta inmunitaria conduce a una proliferación de células T efectoras y/o a una regulación en sentido ascendente de varias moléculas de señalización intracelular claves, que regulan de una manera crítica a la activación de células T y de monocitos. Los compuestos son útiles cuando las respuestas inmunitarias conducen a una regulación en sentido ascendente de varias moléculas de señalización intracelular claves que regulan de una manera crítica a la activación de células T y de monocitos, particularmente a la fosforilación de Syk (Tyr(352)) en monocitos y de ZAP-70 (Tyr (319)) en células T.

50

La Tabla 1 que se encuentra inmediatamente más abajo describe algunas de las enfermedades y condiciones que se pueden tratar usando los compuestos que aquí se describen:



Tabla 1  
Activación de los STATs en cánceres humanos

<b>Tipo de tumor</b>	<b>STAT activado</b>
<b>Tumores de la sangre</b>	
Mieloma múltiple	STAT1 , STAT3
<b>Leucemias:</b>	
Dependientes del HTLV-1	STAT3, STAT5
Eritroleucemia	STAT1, STAT5
Leucemia mielógena aguda (AML)	STAT1 , STAT3, STAT5
Leucemia mielógena crónica (CML)	STAT5
Leucemia linfocítica granular grande (LGL)	STAT3
<b>Linfomas:</b>	
Relacionado con el EBV/ de Burkitt	STAT3
Micosis fungoide	STAT3
Linfoma de células T cutáneas	STAT3
Linfoma no de Hodgkins (NHL)	STAT3
Linfoma anaplásico de células grandes (ALCL)	STAT3
<b>Tumores sólidos</b>	
Cáncer de mama	STAT1 , STAT3, STAT5
Cáncer de cabeza y cuello	STAT1 , STAT3, STAT5
Melanoma	STAT3
Cáncer de ovario	STAT3
Cáncer de pulmones	STAT3
Cáncer pancreático	STAT3
Cáncer de próstata	STAT3
Glioma	STAT3, STAT5

5 Basándose en las referencias citadas en las REFS 12, 17, EBV, virus de Epstein-Barr; HTLV-1, virus linfotrópico T humano-1.

10 La familia de proteínas STAT (acrónimo de "signal transducer y activator of transcription" ) incluye unos factores de transcripción que son activados específicamente para regular la transcripción de un gen cuando las células se encuentran con citocinas y con factores de crecimiento. En los mamíferos, hay siete miembros conocidos de la familia de proteínas STAT: STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b y STAT6. Yu, H., Jove, R., *The STATS of Cancer - New Molecular Targets Come of Age [Los STATS de cáncer – Unas nuevas dianas moleculares alcanzan la madurez de edad]*, Nature Reviews, 4:97-105 (2004). Estas siete proteínas varían en cuanto a su tamaño entre 750 y 850 aminoácidos. Las proteínas STAT5a y STAT5b, citadas colectivamente en el presente texto como "STAT5", están íntimamente relacionadas pero son codificadas por diferentes genes. Yu, H., Jove, R, *The STATS of Cancer - New Molecular Targets Come of Age*, Nature Reviews, 4:97-105 (2004)

15 Las proteínas STAT actúan como transductores de señales en el citoplasma y como activadores de la transcripción en el núcleo. Kisseleva T., Bhattacharya S., Braunstein J., Schindler C.W., *Signaling Through the JAK/STAT Pathway, Recent Advances and Future Challenges [Señalización a través de la ruta de JAK/STAT, recientes avances y futuros retos]*, Gene 285: 1-24 (2002). Por ejemplo las proteínas STAT transducen a señales procedentes de receptores de citocinas, receptores de factores de crecimiento y tirosina cinasas citoplasmáticas, no de receptores, tales como Src y Abl en el núcleo de una célula, en donde ellas fijan al ADN y regulan la transcripción de un surtido de genes. *Id.* Como resultado de esto, las proteínas STAT regulan unas funciones fisiológicas, tales como una respuesta inmunitaria, una inflamación, una proliferación, una diferenciación, una supervivencia, una metástasis, una apoptosis y una tolerancia inmunitaria (p.ej. evasión desde el sistema inmunitario de tumores). Xie, T. y colaboradores, *Stat3 Activation Regulates the Expression of Matrix Metalloproteinase-2 and Tumor Invasion and Metastasis [La activación de los Stat3 regula la expresión de la metaloproteínasa de matriz -2 y la invasión y metástasis de tumores]*, Oncogene 23: 3550-3560 (2004); Levy, D.E., Inghirami, G., *STAT3: A Multifaceted Oncogene [STAT3, un oncogén de múltiples facetas]*, PNAS 103: 10151-5251-52 (2006).

30 Los STATs comparten unos dominios conservados estructural y funcionalmente, que incluyen: un dominio terminal de N que refuerza las interacciones entre dímeros de STAT en unos sitios de fijación de ADN adyacentes; un dominio de STAT con una hélice superenrollada, que está implicado en interacciones de una proteína con otra proteína; un dominio de fijación de ADN con un pliegue similar al de la inmunoglobulina para la proteína supresora de tumores p53; un dominio de engarzador similar al de la mano EF, que conecta a los dominios de fijación de ADN y de SH2; un dominio de SH2 que actúa como un conmutador dependiente de la fosforilación para controlar el reconocimiento de receptores y la fijación de ADN; y un dominio de transactivación terminal de C. Chen X., Vinkemeier U., Zhao Y., Jeruzalmi D., Darnell J.E., Kuriyan J., *Crystal Structure of a Tyrosine Phosphorylated STAT-1 Dimer Bound to DNA [Estructura cristalina de un dímero de STAT-1 fosforilado en tirosina, que está fijado a un ADN]*, Cell 93: 827-839 (1998). Con el fin de fijarse a un ADN, las proteínas STAT deben dimerizarse. Yu, H., Jove, R, *The STATS of Cancer - New Molecular Targets Come of Age*, Nature Reviews, 4:97-105 (2004), Darnell, J.

Jr., *Validating Stat3 in Cancer Therapy [Validación de los Stat3 en la terapia de un cancer]*, Nature Medicine, 11:595-96 (2005). La formación de un dímero implica una interacción recíproca entre un dominio de homología con SRC 2 (SH2) de una molécula de STAT con un residuo de fosfotirosina de una segunda molécula de STAT.

5 Se ha encontrado que las proteínas de STAT son hiperactivas y/o son activadas persistentemente en células de cáncer, inclusive tumores sólidos y malignidades de la sangre, enfermedades proliferativas de la piel y enfermedades inflamatorias. Yu, H., Jove, R., *The STATS of Cancer - New Molecular Targets Come of Age*, Nature Reviews, 4:97-105 (2004). Por ejemplo, la señalización de los STAT ha sido implicada en diversos cánceres. Song, J. I. y Grandis, J. R., *STAT Signaling in Head and Neck Cancer [Señalización de los STAT en un cáncer de cabeza y*  
 10 *cuello]*, Oncogene, 19: 2489-2495, 2000; Nikitakis, N.G. y colaboradores, *Targeting the STAT Pathway in Head and Neck Cancer: Recent Advances and Future Prospects [Dirigir hacia diana a la ruta de los STAT en un cáncer de cabeza y cuello: Recientes avances y expectativas]*, Current Cancer Drug Targets [Actuales dianas de fármacos contra un cáncer], 4:639-651. Una presencia incrementada de los STAT3 y/o STAT5 activados en el núcleo está asociada con una desregulación de la transcripción de genes. Yu, H., Jove, R., *The STATS of Cancer New*  
 15 *Molecular Targets Come of Age*, Nature Reviews, 4:97-105. Además, una presencia incrementada de los STAT3 y/o STAT5 está asociada con una transcripción incrementada de genes que contribuye a una proliferación de células, una supervivencia, una angiogénesis y una tolerancia inmunitaria inducida por un tumor. Yu, H., Jove, R., *The*  
 20 *STATS of Cancer - New Molecular Targets Come of Age*, Nature Reviews, 4:97-105. Similarmente, se sabe que la activación de los STAT3 anula la dependencia con respecto de los factores de crecimiento que contribuye al crecimiento de ciertos tumores de carcinomas. Kijima, T., Niwa, H., Steinman, R. A., Drenning, S. D., Gooding, W. E., Wentzel, A. L., Xi, S., y Grandis, J. R., *STAT3 Activation Abrogates Growth Factor Dependence and Contributes*  
 25 *To Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Tumor Growth In Vivo [La activación de los STAT3 anula a la dependencia con respecto de los factores de crecimiento y contribuye al crecimiento de tumores de carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello]*, Cell Growth Differ [El crecimiento de las células difiere], 13: 355-362, 2002. Se ha informado también de que la activación de los STAT3 regula la supervivencia en células de carcinomas de células no pequeñas humanas. Song, L., Turkson, J., Karras, J. G., Jove, R., y Haura, E. B., *[Activation Of STAT3*  
 30 *By Receptor Tyrosine Kinases And Cytokines Regulates Survival In Human Non-Small Cell Carcinoma Cells]. La activación de los STAT3 por tirosina cinasas y citocinas de receptores regula la supervivencia en células de carcinomas celulares de células no pequeñas humanas]*, Oncogene [Oncogenes], 22:41504 165,2003. Correspondientemente, los STAT3 y STAT5 son unas dianas útiles para tratar a una enfermedad mediada por los STAT3 y STAT5.

35 Las rutas de señalización tanto de los STAT3 como de los STAT5 implican la fijación de citocinas o factores de crecimiento a unos receptores de superficie de células, lo que conduce a la activación de tirosina cinasas citoplasmáticas, tales como la familia de las JAK, que subsiguientemente conducen a una fosforilación de monómeros de STAT. Gadina, M., Hilton, D., Johnston, J. A., Morinobu, A., Lighvani, A., Zhou, Y. J., Visconti, R., O'Shea, J. J. *Signaling by Type I y Type II Cytokine Receptors: Ten Years After [Señalización por receptores de*  
 40 *citocinas del tipo I y del tipo II: Diez años después]*, Curr. Opin. Immunol. 2001, 13: 363. Las proteínas STAT son activadas por fosforilación dando lugar a que ellas se dimericen y se cambien de colocación al núcleo (transloquen), en donde ellas se fijan a unas específicas secuencias de promotores en genes diana. Horvath, C. M., *The Jak-STAT Pathway Stimulated by Interferon Gamma [La ruta Jak-STAT estimulada por interferón gamma]*, Science, STKE, 2004, 260: tr8.

45 Como se muestra esquemáticamente en la Figura 5, los receptores de factores de crecimiento, los receptores de citocinas y las tirosina cinasas no de receptores tienen unas rutas de señalización que convergen en STAT3 y STAT5. Para el STAT3, estos receptores y estas cinasas incluyen IL-2, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-15, IL-21, EGF, OSM, G-CSF, TPO, LIF y GH. Para el STAT5, los receptores y las cinasas incluyen IL-2, IL-3, IL-5, IL-7, IL-9, IL-15, G-CSF, GM-CSF, EPO, TPO, GH y PRL.

50 Más específicamente, se sabe que la activación de los STAT3 es mediada por EGFR, EPO-R y IL-6 R a través de c-Src o JAK2. Véase p.ej., Lai, S. Y., Childs, E. E., Xi, S., Coppelli, F. M., Gooding, W. E., Wells, A., Ferris, R. L., y Grandis, J. R., *Erythropoietin-Mediated Activation of JAK-STAT Signaling Contributes to Cellular Invasion in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma [La activación de la señalización JAK-STAT mediada por eritropoyetina*  
 55 *conduce a una invasión celular en carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello]*, Oncogene, 24: 4442-4449, 2005; Siavash, H., Nikitakis, N. G., y Sauk, J. J., *Abrogation of IL-6-Mediated JAK Signalling by the Cyclopentenone Prostaglandin 15d-PGJ(2) in Oral Squamous Carcinoma Cells [Anulación de la señalización de JAK mediada por IL-6 por la ciclopentenona prostaglandina 15d-PGJ(2) en un carcinoma oral de células escamosas]*, Br J Cancer, 91: 1074-1080, 2004; & Quadros, M. R., Peruzzi, F., Kari, C., y Rodeck, U., *Complex Regulation of Signal Transducers and Activators of Transcription 3 Activation in Normal and Malignant Keratinocytes [Regulación compleja de la*  
 60 *activación de transductores de señales y activadores de la transcripción 3 en queratinocitos normales y malignos]*, Cancer Res, 64: 39343939,2004. La activación de la MAPK puede conducir a una fosforilación disminuida de los STAT3. En tumores sólidos, el PDGFR y el c-Met pueden activar también a los STAT3 a través del c-Src. El IGF1R y

el EGFR pueden activar a los STAT3 de una manera independiente de las JAK. La activación de los STAT3 puede conducir a una activación de varios genes dianas situados corriente abajo inclusive los Bcl-XL, ciclina D1 y VEGF.

La fijación de unos ligandos a un receptor de citocinas en la superficie de células desencadena la activación de las JAKs. Con una actividad de cinasa aumentada, una JAK fosforila a residuos de tirosina en el receptor y crea unos sitios para la interacción con unas proteínas que contienen el dominio SH2 de fijación a fosfotirosina. Los STATs que poseen unos dominios SH2 capaces de fijar a estos residuos de fosfotirosina son reclutados en estos receptores y son fosforilados en tirosina por las JAKs. La fosfotirosina actúa entonces como un sitio de atraque para dominios SH2 de otros STATs, mediando en su dimerización. Diferentes STATs forman heterodímeros así como homodímeros. Los dímeros de STAT activados se acumulan en el núcleo de las células y activan a la transcripción de sus genes dianas. Hebenstreit D. y colaboradores (2005) *Drug News Perspect.* Vol. 18 (4), páginas 243-249. Los STATs pueden ser fosforilados en tirosina por otras tirosina cinasas no de receptores, tales como c-src, al igual que otras tirosina cinasas de receptores, tales como el receptor de un factor de crecimiento epidérmico.

De manera similar, la fijación de citocinas de la familia de la IL-6 (inclusive la IL-6, la oncostatina M y el factor inhibitorio de leucemia) al receptor gp130 desencadena la fosforilación de los STAT3 por las JAK2. Boulton, TG, Zhong, Z, Wen, Z, Darnell, Jr, JE, Stahl, N, y Yancopoulos, GD, *STAT3 Activation by Cytokines Utilizing gp130 and Related Transducers Involves a Secondary Modification Requiring an H7-Sensitive Kinase [La activación de los STAT3 por citocinas utilizando gp130 y transductores relacionados implica una modificación secundaria que requiere una cinasa sensible a H7]* *Proc Natl Acad Sci USA.* 92(15): 6915-6919. EGF-R y ciertas otras tirosina cinasas de receptores, tales como el c-MET, fosforilan a los STAT3 en respuesta a sus ligandos. Yuan ZL y colaboradores, (2004) *Mol. Cell Biol.* Vol. 24 (21), páginas 9390-9400. Un STAT3 es también una diana de la tirosina cinasa no de receptor de c-src. Silva C.M. (2004) *Oncogene* Vol. 23 (48), páginas 8017-8023. Además de la activación de los STAT3 mediante una fijación a IL-6, un STAT3 es activado adicionalmente por la fijación de IL-2, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-15, IL-21, EGF, OSM, G-CSF, TPO, LIF o GH a un apropiado receptor. De manera similar, un STAT5 es activado por la fijación de IL-2, IL-3, IL-5, IL-7, IL-9, IL-15, G-CSF, GM-CSF, EPO, TPO, GH o PRL a un apropiado receptor.

Por cierto que las Janus cinasas ("JAK") desempeñan un importante cometido en las etapas iniciales de la señalización de receptores de citocinas. Mientras que la especificidad de los cuatro miembros de la familia de las JAK (Jak1, Jak2, Jak3 y Tyk2) para diferentes receptores de citocinas no ha sido comprendida plenamente, unos estudios informan de que ciertos específicos receptores de citocinas pueden activar a una o más Jak. O'shea, J. J., Pesu, M., Borie, D. C., Changelian, P. S., *A New Modality for Immunosuppression: Targeting the JAK/STAT Pathway [Una nueva modalidad para una supresión inmunológica: Dirigir hacia diana a la ruta JAK/STAT]*, *Nature Rev. Drug Disc.* 2004 (3): 555-564. Por ejemplo, el receptor de la hormona de crecimiento (GHR acrónimo de growth hormone receptor) puede interactuar predominantemente con las Jak2, y se ha mostrado que él induce la fosforilación de las Jak1 y Jak3. Hellgren, G., Jansson, J. O., Carlsson, L. M., Carlsson, R, *The Growth Hormone Receptor Associates with Jak1, Jak2 and Tyk2 in Human Liver [El receptor de la hormona de crecimiento se asocia con Jak1, Jak2 y Tyk2 en un hígado humano]*, *Growth Horm. IGF Res.* 1999(3):212-8.

La ruta de JAK-STAT puede ser regulada negativamente en múltiples niveles. Las proteína tirosina fosfatasas eliminan fosfatos a partir de receptores de citocinas al igual que los STATs activados. Hebenstreit D. y colaboradores (2005) *Drug News Perspect.* Vol. 18 (4), páginas 243-249. Más recientemente, unos supresores identificados de la señalización de citocinas (SOCS acrónimo de Suppressors of Cytokine Signaling) inhiben a la fosforilación de los STAT por fijación e inhibición de las JAKs o compitiendo con los STATs en cuanto a los sitios de fijación de fosfotirosina en receptores de citocinas. Krebs, L. y colaboradores (2001) *Stem Cells [Células madre]* Vol. 19, páginas 378-387. Los STATs son también ser regulados negativamente por unos inhibidores proteínicos de STATs activados (PIAS acrónimo de Protein Inhibitors of Activated STATs), que actúan en el núcleo a través de diversos mecanismos. Shuai, K. (2006) Vol. 16 (2), páginas 196-202. Por ejemplo, los PIAS1 y PIAS3 inhiben la activación de la transcripción por los STAT1 y STAT3 respectivamente por fijación y bloqueo del acceso a las secuencias de ADN que ellos reconocen.

La ruta de señalización JAK-STAT toma parte en la regulación de respuestas celulares a citocinas y factores de crecimiento. Empleando Janus cinasas (JAKs) y transductores de señales y activadores de la transcripción (STATs), la ruta transduce a la señal soportada por estos polipéptidos extracelulares al núcleo de las células, en donde unas proteínas STAT activadas modifican la expresión de genes. Aunque los STATs fueron descubiertos originalmente como dianas de Janus cinasas, ciertos estímulos pueden activarlos de una manera independiente de las JAKs. D W Leaman, S Pisharody, T W Flickinger, M A Commane, J Schlessinger, I M Kerr, D E Levy y G R Stark *Roles of JAKs in Activation of STATs and Stimulation of c-fos Gene Expression by Epidermal Growth Factor [Cometidos de las JAKs en la activación de los STATs y estimulación de la expresión del gen c-fos por el factor de crecimiento epidérmico]*, *Mol Cell Biol.* 1996 16(1): 369-375. Esta ruta desempeña un cometido primordial en las decisiones principales del destino de las células, regulando a los procesos de proliferación, diferenciación y apoptosis de las células. La fosforilación de activadores de los STAT requiere una fosforilación de las JAK para fosforilar. En otras palabras, las JAK deben primeramente fosforilarse y fijarse a los STAT. Un STAT es entonces capaz de fosforilarse y dimerizarse con otro STAT.

Los compuestos que aquí se describen pueden controlar el crecimiento y la supervivencia de las células a través de una modulación de los STAT. La actividad de las células es regulada por unas "señales." Las señales penetran en las paredes de las células a través de unos receptores, Las señales son transducidas por los STATs. Los STATs completan una ruta hasta un ADN. Las señales activan a la transcripción de un ADN (referido de otro modo como la activación de un gen). Los BCL-XI, MCL1, Survivina y p53 se implican en la supervivencia de las células. Los MYC, las ciclina D1/D2 y p53 se implican en la proliferación de las células. Corriente abajo de la fosforilación de una STAT3, las rutas de señalización causan una angiogénesis como resultado de la regulación of VEGF, H1F1 y p53, y evasión desde el sistema inmunitario como ha sido regulado por factores supresores de inmunidad, citocinas proinflamatorias y quimiocinas proinflamatorias.

Los compuestos y métodos que se han descrito aquí pueden modular directa o indirectamente a la activación de los STAT3 y/o STAT5. Por ejemplo, los compuestos y métodos pueden inhibir a la activación de los STAT3: (1) afectando a las rutas de señalización que conducen a la activación de los STAT3 o STAT5, de manera tal que se impide o reduce la activación corriente abajo de los STAT3 o STAT5; (2) impidiendo o reduciendo directamente la activación de los STAT3 o STAT5, p.ej. impidiendo la fosforilación de los STAT3 o STAT5; y (3) desbaratando la formación de complejos por los STAT3 o STAT5 con cualquier número de cofactores y/o macromoléculas, en donde los complejos son responsables de la regulación de la señalización de los STAT3 o STAT5, y de manera similar de la activación de los STAT5.

Una inhibición de la activación de los STAT3 y/o STAT5 se puede efectuar, directa o indirectamente, mediante una cualquiera de las estrategias de dirección hacia dianas de los STAT que actualmente se conocen en la especialidad. Solamente por vía de ejemplo, la actividad de los STAT3 puede ser disminuida: (1) reduciendo la disponibilidad de moléculas de STAT3 o STAT5 para su reclutamiento; (2) bloqueando el reclutamiento de los STAT3 o STAT5 en receptores, (3) bloqueando la fosforilación de moléculas de STAT3 o STAT5; (4) interfiriendo en la formación de dímeros de los STAT3 o STAT5; (5) interfiriendo en el cambio de colocación (translocación) de los dímeros de STAT3 o STAT5 hacia el núcleo; (6) interfiriendo en la fijación de los STAT3 o STAT5 a un ADN; (7) interfiriendo en la interacción de los STAT3 o STAT5 con unos activadores de transcripción; y/o (8) por otros métodos de impedir una activación de la transcripción mediada por los STAT. Véase p.ej., N.G. Nikitakis, y colaboradores, *Targeting the STAT Pathway in Head and Neck Cancer: Recent Advances y Future Prospects*, Current Cancer Drug Targets, 4: 637-651 (2004).

Una modulación directa o indirecta de la actividad de los STAT3 o STAT5 por los compuestos que aquí se presentan puede impedir, reducir o eliminar la activación dependiente de los STAT3 y/o STAT5 de genes responsables de la proliferación, supervivencia, metástasis, angiogénesis, respuesta inmunitaria, y evasión desde el sistema inmunitario de tumores. Tal como se muestra esquemáticamente en las Figuras 5 y 6, la activación de los STAT3 y/o STAT5 tiene un efecto sobre la transcripción de muchos genes inclusive, pero sin limitarse a, los VEGF, MMP9, MMP2, survivina, c-Myc, MMP-1, MEK-5, c-FOS, COX-2, Bcl-xL, MMP-10, HSP27, Jmjd1a y PGE-2.

Estos efectos de los STAT activados sobre la transcripción de ciertos genes están asociados de manera similar con unos efectos fisiológicos. Por ejemplo, tal como ha sido informado por Yu y Jove en las páginas 99-101 que se incorporan por su referencia en el presente texto, unos STATs activados favorecen la supervivencia de las células regulando en sentido ascendente a Bcl-xL, MCL1 y a la supervivencia, y regulando en sentido descendente al p53. Yu, H., y colaboradores, *The STATS of Cancer - New Molecular Targets Come of Age*, Nature Reviews, 4:97-105 (2004). Los STATs activados apoyan también a la proliferación regulando en sentido ascendente a MYC y ciclinas D1/D2 y regulando en sentido descendente al p53. Adicionalmente, los STATs activados apoyan a la angiogénesis mediante una regulación en sentido ascendente de VEGF y H1F1, y una regulación en sentido descendente del p53. Por lo demás, los STATs activados ayudan también evasión desde el sistema inmunitario de tumores regulando en sentido ascendente a factores supresores de inmunidad y regulando en sentido descendente a citocinas y quimiocinas proinflamatorias.

Además de ser útiles para el tratamiento de seres humanos, los compuestos y las formulaciones del presente invento son también útiles para el tratamiento veterinario de animales de compañía, animales exóticos y animales de granja, incluyendo mamíferos, roedores y similares. Los animales más preferidos incluyen caballos, perros y gatos.

## MÉTODOS GENERALES DE SÍNTESIS PARA PREPARAR COMPUESTOS

Los siguientes esquemas se pueden usar para practicar el presente invento

Síntesis y caracterización

Síntesis de (E)-3-(6-bromo-piridin-2-il)acrilaldehído

- 5 Una solución de 6-bromo-2-carboxi-piridina (3 g, 16,1 mmol) se disolvió en diclorometano (100 ml). Se añadió (trifenil-fosforaniliden)acetaldehído (4,9 g, 16,1 mmol) y la mezcla obtenida se agitó a la temperatura ambiente durante 5 horas. El diclorometano se evaporó parcialmente (hasta el volumen de aproximadamente 50 ml) y la mezcla de reacción se aplicó sobre una columna de cromatografía (SilicaGel60). Los productos se eluyeron con diclorometano. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y evaporaron para dar 2,3 g de un polvo de color blanco (rendimiento 67 %).

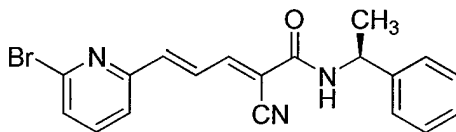
<sup>1</sup>HRMN (CDCl<sub>3</sub>, δ) ppm: 9,81 (d, 1H, J = 7,6 Hz, CHO), 7,63 (dd, 1H, J = J = 7,7 Hz, H4), 7,51 (dd, 2H, J = J = 7,7 Hz, H-3,5), 7,45 (d, 1H, J = 15,8 Hz, Ar-CH=CH-CHO), 7,12 (dd, 1H, 1H, J = 15,8 Hz, J = 7,6 Hz, Ar-CH=CH-CHO)

Procedimiento general: Síntesis de (2E,4E)-5-(6-bromo-piridin-2-il)-2-ciano-2,4-dienamidas sustituidas en N.

- 15 Se preparó una solución de (1) (2,1 g, 9,9 mmol) y de piperidina (0,2 ml) en etanol anhidro. Se añadió aldehído (10,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente. Después de 3 horas el material sólido obtenido se filtró, se lavó con etanol y se secó. Se prepararon los compuestos que se ilustran en los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

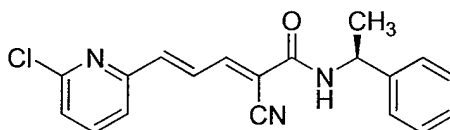
(2E,4E)-5-(6-bromo-piridin-2-il)-2-ciano-N-[(1S)-1-fenil-etil]penta-2,4-dienamida



- 20 Rendimiento 67 % (2E,4E)-5-(6-bromo-piridin-2-il)-2-ciano- N-[(1S)-1-fenil-etil]penta-2,4-dienamida  
<sup>1</sup>HRMN (CDCl<sub>3</sub>, δ) ppm: 8,07 (d, 1H, J = 12,1 Hz, H-3), 7,71 (dd, 1H, J = 12,1 Hz, J = 15,0 Hz, H-4), 7,59 (dd, 1H, J = J = 7,7 Hz, H-4'), 7,47 (d, 1H, J = 7,5 Hz, H-3'), 7,41 (d, 1H, J = 7,63 Hz, H-5'), 7,39 - 7,29 (m, 5H, H aromát), 7,15 (d, 1H, J = 15,0 Hz, H-5), 6,45 (d, 1 H, J = 7,5 Hz, NH), 5,23 (dt, 1 H, J = 7,0 Hz, J = 7,5 Hz, H-1"), 1,61 (d, 1 H, J = 7,0 Hz, Me).

EJEMPLO 2

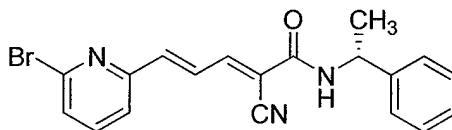
(2E,4E)-5-(6-cloro-piridin-2-il)-2-ciano-N-[(1S)-1-fenil-etil]penta-2,4-dienamida



- 30 <sup>1</sup>HRMN (CDCl<sub>3</sub>, δ) ppm: 8,07 (d, 1H, J = 12,1 Hz, H-3), 7,73 (dd, 1H, J = 12,0 Hz, J = 15,0 Hz, H-4), 7,70 (dd, 1H, J = J = 7,81 Hz, H-4'), 7,43 - 7,29(m, 7H, H-3', H-5', H aromát), 7,18 (d, 1H, J = 15,0 Hz, H-5), 6,45 (d, 1H, J = 7,3 Hz, NH), 5,25 (dt, 1H, J = 7,0 Hz, J = 7,5 Hz, H-1"), 1,61 (d, 1 H, J = 7,0 Hz, Me).

EJEMPLO 3

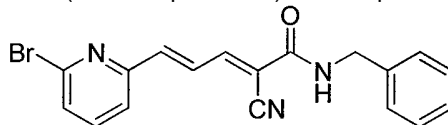
(2E,4E)-5-(6-cloro-piridin-2-il)-2-ciano-N-[(1R)-1-fenil-etil]penta-2,4-dienamida



- 40 <sup>1</sup>HRMN (CDCl<sub>3</sub>, δ) ppm: 8,07 (d, 1H, J = 12,1 Hz, H-3), 7,71 (dd, 1H, J = 12,1 Hz, J = 15,0 Hz, H-4), 7,59 (dd, 1H, J = J = 7,7 Hz, H-4'), 7,47 (d, 1H, J = 7,5 Hz, H-3'), 7,41 (d, 1H, J = 7,63 Hz, H-5'), 7,39 - 7,29 (m, 5H, H aromát), 7,15 (d, 1H, J = 15,0 Hz, H-5), 6,45 (d, 1 H, J = 7,5 Hz, NH), 5,23 (dt, 1 H, J = 7,0 Hz, J = 7,5 Hz, H-1"), 1,61 (d, 1 H, J = 7,0 Hz, Me).

## EJEMPLO 4

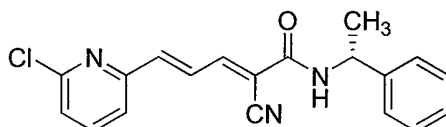
(2E,4E)-N-bencil-5-(6-bromo-piridin-2-il)-2-ciano-penta-2,4-dienamida



5  $^1\text{HRMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) ppm: 8,10 (d, 1H,  $J = 12,1$  Hz, H-3), 7,70 (dd, 1H,  $J = 12,1$  Hz,  $J = 15,0$  Hz, H-4), 7,57 (d, 1H,  $J = 7,7$  Hz, H-4'), 7,46 - 7,29 (m, 7H, H-3', H-5', H arom), 7,16 (d, 1H,  $J = 15,0$  Hz, H-5), 6,52 (bs, 1H, NH), 4,58 (d, 1H,  $J = 5,8$  Hz, 1").

## EJEMPLO 5

(2E,4E)-5-(6-cloro-piridin-2-il)-2-ciano-N-[(1R)-1-fenil-etil]penta-2,4-dienamida

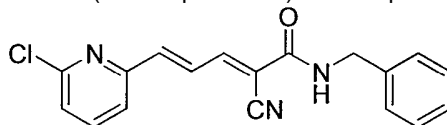


10  $^1\text{HRMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) ppm: 8,07 (d, 1H,  $J = 12,1$  Hz, H-3), 7,73 (dd, 1H,  $J = 12,0$  Hz,  $J = 15,0$  Hz, H-4), 7,70 (dd, 1H,  $J = J = 7,81$  Hz, H-4'), 7,43 - 7,29 (m, 7H, H-3', H-5', H arom), 7,18 (d, 1H,  $J = 15,0$  Hz, H-5), 6,45 (d, 1H,  $J = 7,3$  Hz, NH), 5,25 (dt, 1H,  $J = 7,0$  Hz,  $J = 7,5$  Hz, H-1"), 1,61 (d, 1H,  $J = 7,0$  Hz, Me).

15

## EJEMPLO 6

(2E,4E)-N-bencil-5-(6-cloro-piridin-2-il)-2-ciano-penta-2,4-dienamida

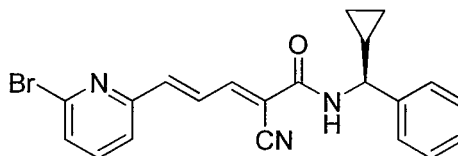


20  $^1\text{HRMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) ppm: 8,09 (d, 1H,  $J = 12,1$  Hz, H-3), 7,72 (dd, 1H,  $J = 12,1$  Hz,  $J = 15,0$  Hz, H-4), 7,68 (dd, 1H,  $J = J = 7,8$  Hz, H-4'), 7,40 - 7,28 (m, 7H, H-3', H-5', H arom), 7,17 (d, 1H,  $J = 15,0$  Hz, H-5), 6,45 (bs, 1H, NH), 4,58 (d, 1H,  $J = 5,75$  Hz, H-1").

20

## EJEMPLO 7

(2E,4E)-5-(6-bromo-piridin-2-il)-2-ciano-N-[(S)-ciclopropil(fenil)metil]penta-2,4-dienamida

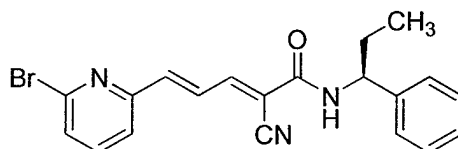


25  $^1\text{HRMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) ppm: 8,06 (d, 1H,  $J = 12,1$  Hz, H-3), 7,72 (dd, 1H,  $J = 12,1$  Hz,  $J = 15,0$  Hz, H-4), 7,59 (dd, 1H,  $J = J = 7,9$  Hz, H-4'), 7,47 - 7,29 (m, 7H, H-3', H-5', H arom), 7,15 (d, 1H,  $J = 15,0$  Hz, H-5), 6,68 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz, NH), 4,49 (dd, 1H,  $J = 8,0$  Hz,  $J = 8,8$  Hz, H-1"), 1,33-1,24 (m, 1H, H-2"), 0,69 - 0,41 (m, 4H, 3"-CH<sub>2</sub>, 4"-CH<sub>2</sub>).

25

## EJEMPLO 8

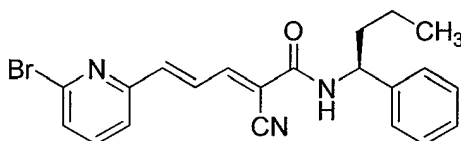
(2E,4E)-5-(6-bromo-piridin-2-il)-2-ciano-N-[(1S)-1-fenil-propil]penta-2,4-dienamida



35  $^1\text{HRMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) ppm: 8,03 (dd, 1H,  $J = 12,1$  Hz,  $J = 0,7$  Hz, H-3'), 7,69 (dd, 1H,  $J = 12,1$  Hz,  $J = 15,0$  Hz, H-4), 7,57 (dd, 1H,  $J = 7,5$  Hz,  $J = 7,9$  Hz, H-4'), 7,45 (dd, 1H,  $J = 7,9$  Hz,  $J = 0,8$  Hz, H-3), 7,39 (dd, 1H,  $J = 7,5$  Hz,  $J = 0,8$  Hz, H-5), 7,39 - 7,27 (m, 5H, H arom), 7,1 (d, 1H,  $J = 15,0$  Hz, H-5), 6,43 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz, NH), 4,96 (dd, 1H,  $J = 15,2$  Hz,  $J = 7,5$  Hz, H-1"), 1,99 - 1,85 (m, 2H, H-2"), 0,93 (t, 3H,  $J = 7,4$  Hz, H-3").

35

**EJEMPLO 9**  
(2*E*,4*E*)-5-(6-bromo-piridin-2-il)-2-ciano-N-[(1*S*)-1-fenil-butil]penta-2,4-dienamida



5  $^1\text{HRMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) ppm: 8,03 (dd, 1H,  $J = 12,1$  Hz,  $J = 0,7$  Hz, H-3), 7,68 (dd, 1H,  $J = 15,0$  Hz,  $J = 12,1$  Hz, H-4), 7,55 (dd, 1H,  $J = 7,7$  Hz, H-4'), 7,45 (dd, 1H,  $J = 7,9$  Hz,  $J = 0,8$  Hz, H-3'), 7,39 (dd, 1H,  $J = 7,5$  Hz,  $J = 0,8$  Hz, H-5'), 6,66 - 7,28 (m, 6H, H-4, H arom), 7,13 (d, 1H,  $J = 14,9$  Hz, H-5), 6,42 (d, 1H,  $J = 8,0$  Hz, NH), 5,05 (dd, 1H,  $J = 15,3$ ,  $J = 7,6$  Hz, H-1"), 1,91 - 1,82 (m, 2H, H-2"), 1,41 - 1,24 (m, 2H, H-3"), 0,95 (t, 3H,  $J = 7,3$  Hz, H-4").

10 La actividad antiproliferativa de los compuestos del Ejemplo 1 y del Ejemplo 7 se ha mostrado en un linaje de células de cáncer pancreático Colo357FG como sigue:

	Colo357FG
Compuesto	IC50 $\mu\text{M}$
Ejemplo 1	3,2
Ejemplo 7	5,4

15 La actividad de los compuestos como agentes inhibidores de los STAT, en los Ejemplos 1, 2, 4 y 9 ha sido mostrada por al menos uno de los siguientes sistemas de ensayo. Los datos de actividad asociados que se obtuvieron se proporcionan en las Figuras 1 hasta 4. Se predice que los otros compuestos que anteriormente se han descrito, pero que hasta ahora no han sido preparados todavía, tienen una actividad en estos sistemas de ensayo igualmente.

Ensayo de actividad biológica

Método MTT para determinar la viabilidad de células y la respuesta a la dosis de fármaco

20 Se sembraron una diversidad de tipos de células en una densidad de 50.000 células/100  $\mu\text{l}$  por pocillo sobre unas placas de 96 pocillos y se cultivaron durante 24-48 h en un medio DMEM hasta que ellos alcanzaron la confluencia. En la confluencia, se añadieron a los pocillos 25  $\mu\text{l}$  de unos medios de nueva aportación que contenían WP1220 en diversas concentraciones (de 0 a 100  $\mu\text{M}$ ) y se incubaron durante 72 h a 37  $^\circ\text{C}$ . El complejo se retiró, se añadieron 25 100  $\mu\text{l}$  de un medio de nueva aportación y las células se incubaron durante una noche. El medio se retiró y un medio de nueva aportación (100  $\mu\text{l}$ ) se añadió a cada pocillo juntamente con (20  $\mu\text{l}$ ) de una solución de MTT (5 mg/ml en PBS) antes de incubar a las células durante otras 4 h a 37  $^\circ\text{C}$ . El producto de la reacción se solubilizó con dodecil sulfato de sodio (100  $\mu\text{l}$ , 10 %, p/v) en HCl 0,01 N durante una noche, antes de cuantificar el producto usando un lector de microplacas a 590 nm y comparándolo con células testigo. El experimento se llevó a cabo en triplicado 30 (n = 3).

Ensayo de actividad biológica

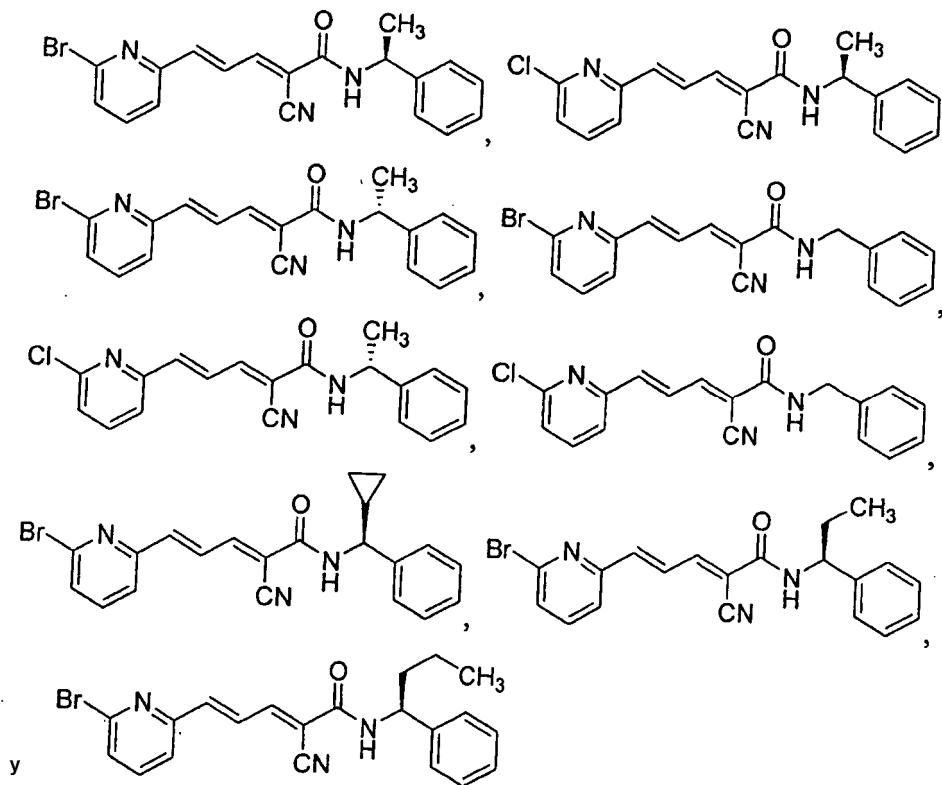
Métodos de borrón Western para determinar el contenido de proteínas y fosfoproteínas

35 Usando unos anticuerpos de fosfotirosina STAT3 (Y705), de fosfotirosina Jak2 (Y1007/1008), de los STAT3 totales, de las Jak2 totales, de Bcl-xL, de actina (Cell Signaling Technology, Danvers, MA) y de survivina (R&D Systems, Minneapolis, MN), se realizaron unas transferencias de borrones Western usando los siguientes métodos. Dicho brevemente, (1) se prepararon unas muestras a partir de unas células que fueron homogeneizadas en un tampón que protegía con respecto de la degradación a la proteína que interesaba; (2) luego la muestra se separó usando una SDS-PAGE (10-15  $\mu\text{g}$  de proteína/pocillo) y luego se transfirió a una membrana para la detección; y (3) la 40 membrana se incubó con una proteína genérica (proteínas lácteas) para fijarla a cualesquiera sitios remanentes en la membrana. Un anticuerpo primario se añadió luego a la solución que es capaz de fijarse a su proteína específica; (4) un conjugado de un anticuerpo secundario y enzima que reconoce al anticuerpo primario se añadió luego para encontrar los sitios en donde se había fijado el anticuerpo primario.

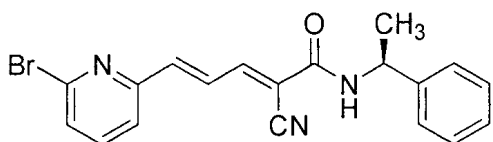
45

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene una fórmula estructural seleccionada entre el conjunto que consiste en:

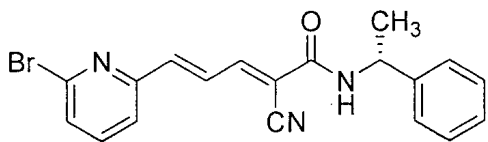


2. El compuesto que se ha citado en la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la fórmula estructural:



5

3. El compuesto que se ha citado en la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la fórmula estructural:

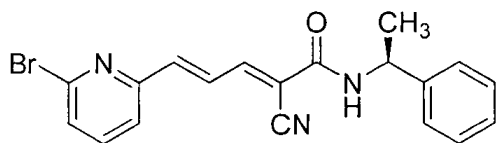


10

4. El compuesto que se ha citado en la reivindicación 1, destinado al uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre el conjunto que consiste en cánceres, condiciones angiogénicas proliferativas, trastornos cutáneos proliferativos, enfermedades del sistema nervioso central, trastornos inflamatorios y enfermedades autoinmunitarias.



5. El compuesto destinado al uso que se ha citado en la reivindicación 4, en donde el compuesto tiene la fórmula estructural:



5 6. El compuesto destinado al uso que se ha citado en la reivindicación 4, en donde dicho cáncer se selecciona entre  
 el conjunto que consiste en leucemia, leucemia dependiente de HTLV-1, eritroleucemia, leucemia mielógena aguda,  
 leucemia mielógena crónica, leucemia de linfocitos granulares grandes, linfoma, linfoma de Burkitt, micosis  
 fungoides, linfoma de células T cutáneas, linfoma no de Hodgkins, linfoma anaplásico de células grandes, cáncer de  
 mama, cáncer de cabeza y cuello, melanoma, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer pancreático, cáncer de  
 10 próstata, cáncer de vejiga, gliomas de alto grado, metástasis cerebrales, cáncer de piel, cáncer de colon, síndrome  
 mielodisplásico y mieloma múltiple.

7. El compuesto destinado al uso que se ha citado en la reivindicación 4, en el que dicha condición angiogénica  
 proliferativa se selecciona entre el conjunto que se compone de telangiectasias, angiomas venosos,  
 hemangioblastomas y policitemia vera.

15 8. El compuesto destinado al uso que se ha citado en la reivindicación 4, en el que dicho trastorno cutáneo  
 proliferativo se selecciona entre el conjunto que consiste en dermatitis tópica, psoriasis y rosácea.

9. El compuesto destinado al uso que se ha citado en la reivindicación 4, en el que dicho trastorno cutáneo  
 proliferativo es psoriasis.

20 10. El compuesto destinado al uso que se ha citado en la reivindicación 4, en el que dicha enfermedad del sistema  
 nervioso central se selecciona entre el conjunto que se compone de esclerosis múltiple y leucoencefalopatía  
 multifocal progresiva.

11. El compuesto destinado al uso que se ha citado en la reivindicación 4, en el que dicho trastorno inflamatorio se  
 selecciona entre el conjunto que se compone de osteoartritis, artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn y colitis  
 ulcerativa.

25 12. El compuesto destinado al uso que se ha citado en la reivindicación 4, en el que dicha enfermedad  
 autoinmunitaria es lupus.

13. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se ha citado en la reivindicación 1,  
 conjuntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

14. La composición farmacéutica que se ha citado en la reivindicación 13, en donde dicha composición farmacéutica  
 es una composición farmacéutica tópica.

30 15. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto que se ha citado en la reivindicación 2,  
 conjuntamente con un vehículo aceptable farmacéuticamente.

16. La composición farmacéutica que se ha citado en la reivindicación 15, en donde dicha composición farmacéutica  
 es una composición farmacéutica tópica.

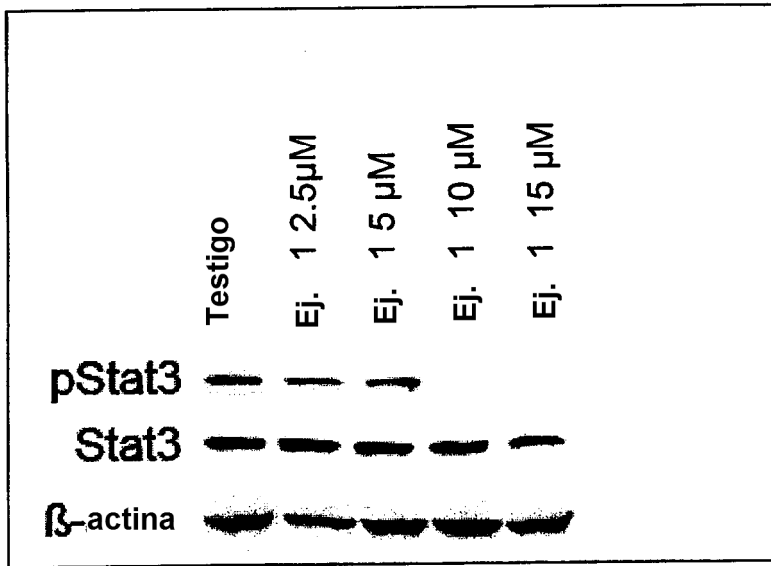


Fig. 1

RESPUESTA A LA DOSIS EN U87 Ej. 2/4

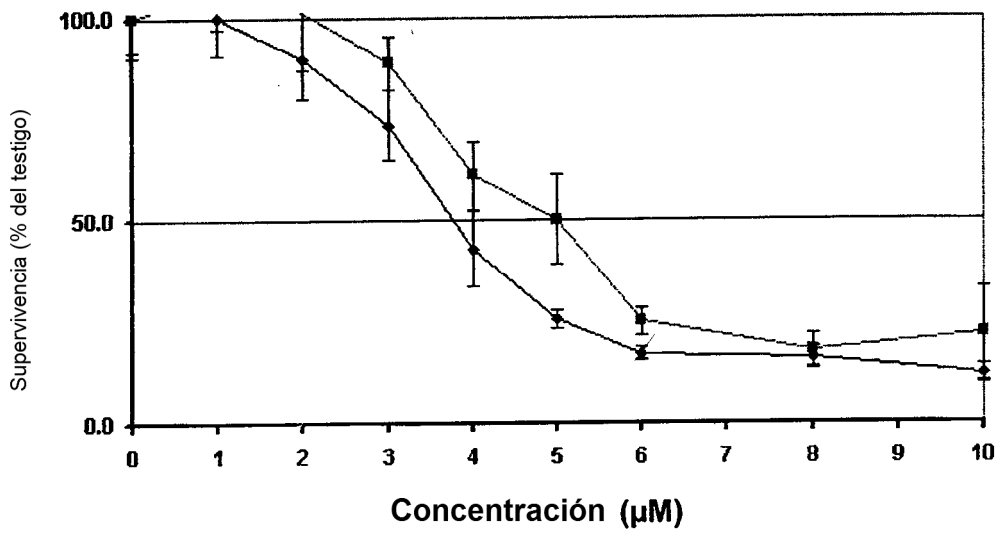


Fig. 2

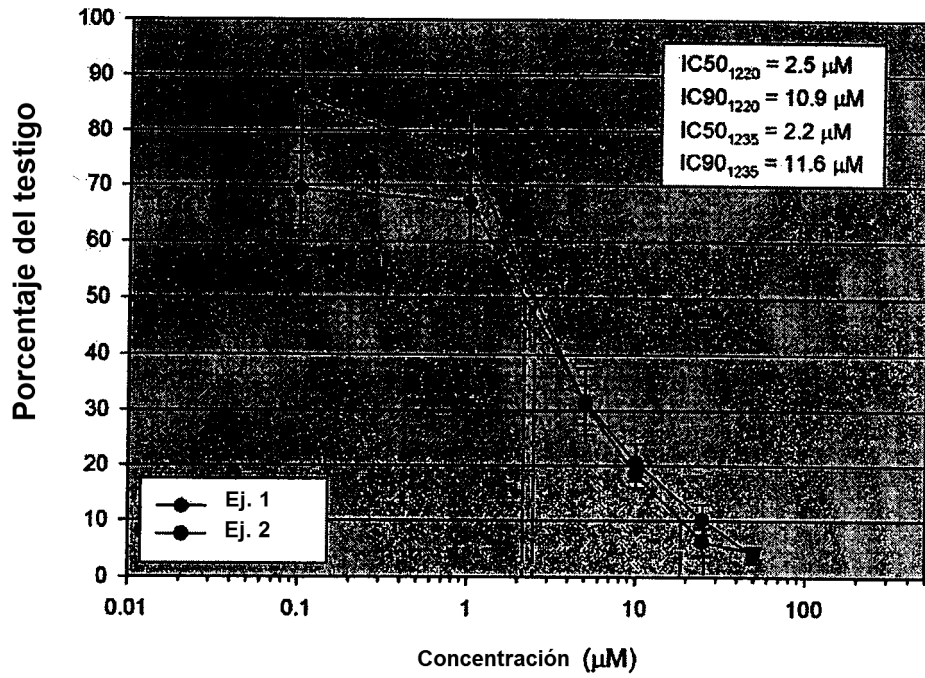


Fig. 3

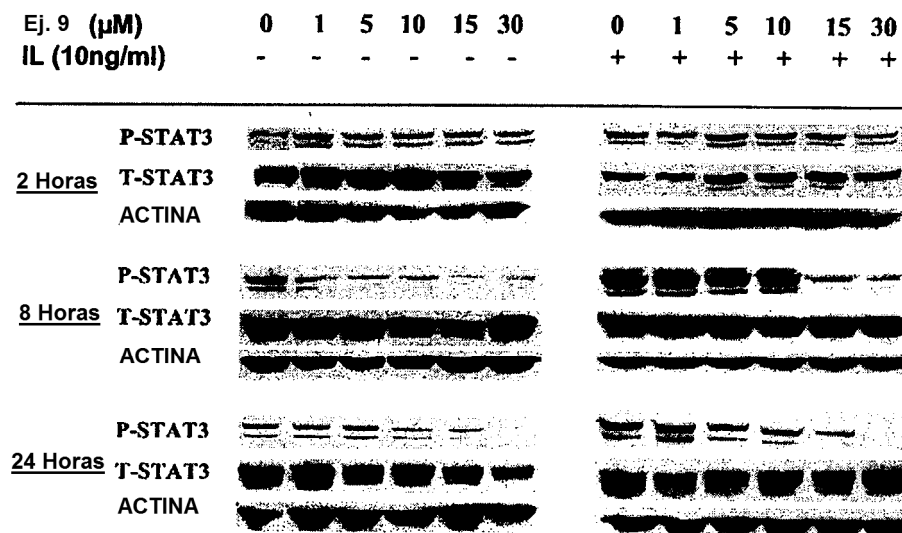


Fig. 4

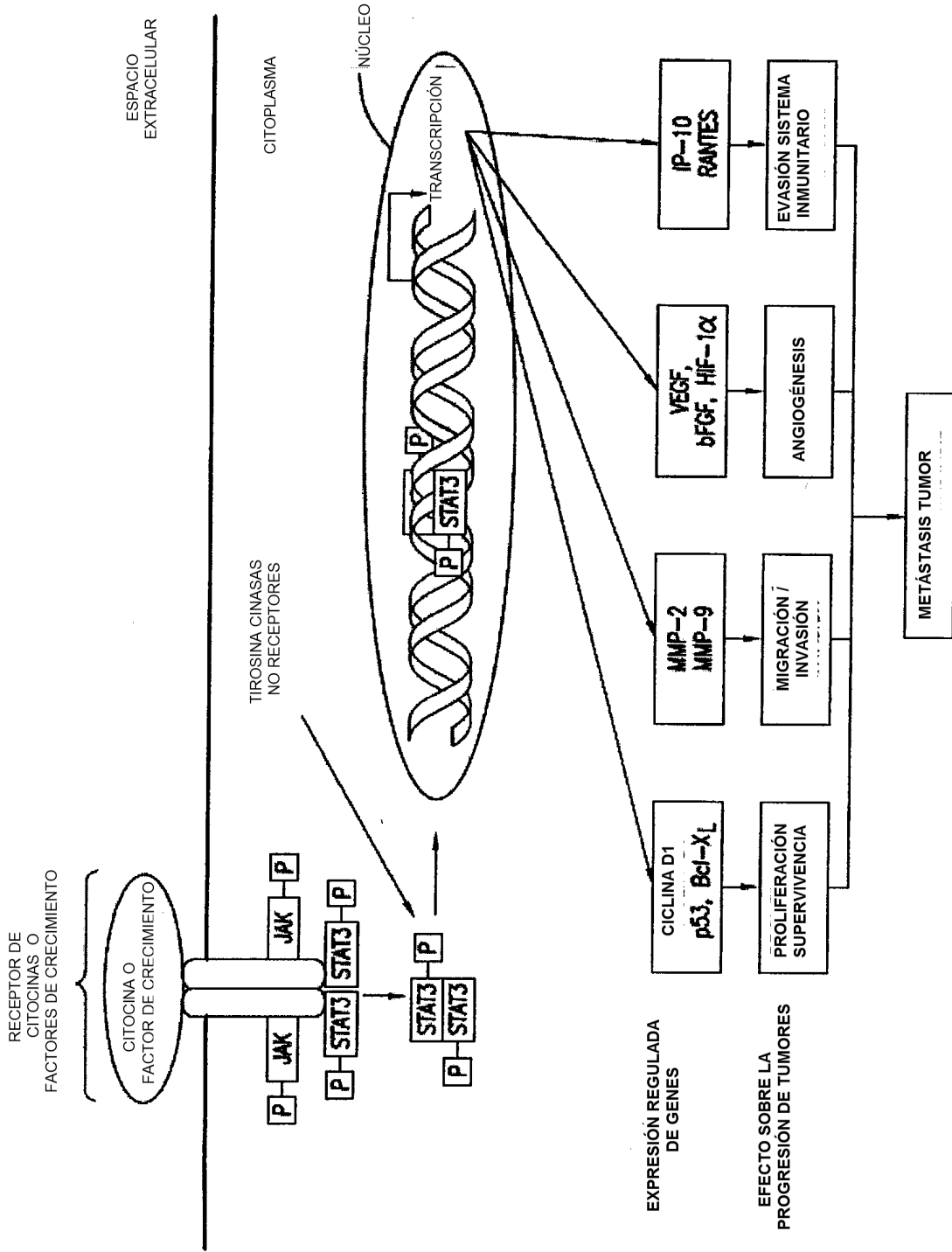


Fig. 5