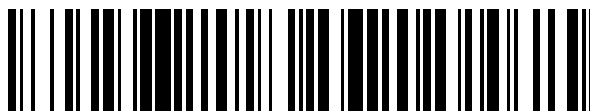


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 666 422**

51 Int. Cl.:

**A61K 36/73** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61P 37/00** (2006.01)  
**A61K 31/519** (2006.01)  
**A61K 31/282** (2006.01)  
**A61K 31/337** (2006.01)  
**A61K 31/704** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.09.2014 PCT/IB2014/064422**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **19.03.2015 WO15036949**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2014 E 14786320 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.01.2018 EP 3043809**

54 Título: **Extracto de Filipendula vulgaris y usos del mismo**

30 Prioridad:

**11.09.2013 IT RM20130502**

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

**04.05.2018**

73 Titular/es:

**ABOCA S.P.A. SOCIETA' AGRICOLA (100.0%)  
Frazione Aboca 20  
52037 Sansepolcro (AR), IT**

72 Inventor/es:

**MERCATI, VALENTINO y  
MAIDECCHI, ANNA**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 666 422 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

Extracto de *Filipendula vulgaris* y usos del mismo

5 Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere a un extracto de *Filipendula vulgaris* según Moench (sinónimo: *Filipendula hexapetala* Gilib.) y a composiciones y kits que comprenden dicho extracto para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una afección patológica caracterizada por una activación constitutiva del factor de transcripción STAT3.

10

Técnica anterior

15 En las últimas décadas, muchas pruebas en la bibliografía indican el papel fundamental de factores de transcripción que pertenecen a la familia de STAT en una amplia diversidad de patologías, tal como en patologías inflamatorias que promueven tumores y en los tumores en sí mismos. Las proteínas STAT son factores de transcripción citoplasmáticos cuya fosforilación/activación (en restos específicos de serina y/o tirosina debido a la acción de las familias de proteínas JAK o Janus quinasa) determina la dimerización de dos monómeros de STAT, la traslocación del dímero en el núcleo, la unión con elementos del ADN de genes diana específicos de STAT y la inducción de transcripción génica. La familia de los factores STAT consiste en siete miembros (codificados por los genes STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B y STAT6) con diversas funciones biológicas que incluyen papeles en la diferenciación, la proliferación, el desarrollo, la apoptosis y la inflamación celular. Una característica de las proteínas codificadas por estos genes es la de tener un papel doble, más específicamente un papel de transducción de la señal en el citoplasma y de factor de transcripción en el núcleo. En particular, una activación constitutiva de STAT3 y en menor medida de STAT5 se ha asociado en diversas neoplasias con la desregulación de algunas rutas intracelulares, incluyendo las implicadas en la supervivencia del tumor y en la proliferación de la célula tumoral, pero también en el proceso de la angiogénesis y la metástasis del tumor en sí mismo.

20

25

30 YuH. et al en una revisión publicada en Nature en 2009 (Nature Reviews Cancer 9, 798-809: 2009) indicaban que la activación persistente de STAT3 induce inflamación que promueve el cáncer y regula genes cruciales para la inflamación y el microambiente tumoral. Se muestran genes activados por STAT3 en las Tablas 1 y 2 del trabajo anteriormente mencionado y algunos inhibidores de la activación de STAT3 también se describen entre sustancias naturales, tales como curcubitacina, resveratrol, galialactona e indirubina, sin embargo se indica que se desconocen los mecanismos de acción por los que actúan estas sustancias.

35

En cualquier caso, el trabajo indica que la modulación de STAT3 es un enfoque nuevo, más eficaz y altamente ventajoso para tratar el cáncer, indicando que la ablación del gen de STAT3 en diversos modelos tumorales condujo a la inhibición del crecimiento tumoral.

40

45

La activación constitutiva de STAT3 se ha indicado en un gran número de tumores, incluyendo cáncer de mama, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, mieloma múltiple, linfoma y leucemia, tumores cerebrales, cáncer de colon, sarcoma de Ewing, cáncer de estómago, cáncer esofágico, cáncer de ovario, cáncer nasofaríngeo y cáncer pancreático (Tabla 1, posterior). Para muchos tipos de cáncer, altos niveles de STAT3 activado se han ligado a mal pronóstico. La activación de STAT3 bloquea la apoptosis y aumenta la proliferación celular y la supervivencia celular, promoviendo la angiogénesis y metástasis e inhibiendo las respuestas inmunitarias antitumorales. Las líneas celulares tumorales en las que STAT3 está activado de forma constitutiva requieren la activación continua de STAT3, un fenotipo que se ha definido como «dependencia de oncogenes» (Johnston PA y Grandis RG, MolInterv; 11 (1); 18-26:2011).

50

55

El mesotelioma plural maligno (MPM) es un tumor agresivo derivado de las células mesoteliales de las cavidades torácicas y, aunque la quimioterapia (con frecuencia si se usa pemetrexed) mejora el tiempo de supervivencia en pacientes con MPM inoperable, el tiempo de supervivencia global promedio es de solamente 12 meses. Se ha indicado recientemente que una diana terapéutica molecular potencial para MPM es la ruta de señalización de interleucina-6 (IL-6)/JAK/STAT3 activada por el alto nivel de IL-6 presente en el líquido pleural de pacientes con MPM. La unión de IL-6 con su receptor provoca un cambio conformacional en el receptor que inicia la activación de JAK, lo que a su vez inicia la dimerización del factor de transcripción STAT3, y el dímero de STAT3 se trasloca al núcleo, determinando de este modo el inicio de la transactivación de diversos genes diana.

60

Esta ruta es clave para la aparición de hematopoyesis, de la respuesta inmunitaria y de oncogénesis. Además, también se ha demostrado que la disfunción del sistema JAK/STAT3 está implicada en el desarrollo del cáncer.

65

Además, siempre está presente en la bibliografía una descripción general del papel desempeñado por STAT3 en el desarrollo y en la progresión del tumor. Se ha observado una activación constitutiva de STAT3 tanto en tumores sanguíneos (mieloma múltiple, leucemia, linfoma) como en tumores sólidos (melanomas, carcinoma de los ovarios, de la próstata y de las células renales, adenocarcinoma pancreático, cáncer de pulmón y cáncer de cerebro). Para mayor profundidad, la Tabla 3 posterior, tomada de Turkson J y Jove R, Oncogene; 19(56):6613-26: 2000, indica

5 numerosos tumores asociados directamente con la activación anómala de STAT3. En particular, esta activación anómala parece estar causada por la acción de tirosina quinasas transformantes, tales como v-Src, v-Ros, v-Fps, Etk/BMX y Lck, o por una señal anómala inducida por la liberación autocrina o paracrina de citocinas. La activación constitutiva de STAT3 conduce a una mayor expresión de genes que codifican inhibidores de la apoptosis (por ejemplo Bcl-xL, Mcl-1), reguladores del ciclo celular (por ejemplo ciclina D1/D2, c Myc) e inductores de la angiogénesis (por ejemplo VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular). Por último, se ha demostrado recientemente que además de tener un papel clave en la tumorigénesis, la activación constitutiva de este factor de transcripción confiere resistencia a la muerte inducida por agentes quimioterapéuticos (Aggarwal B. B. et al. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1091; 151-69: 2006).

10 Una diversidad de investigaciones clínicas ha demostrado que, *in vivo*, los tumores sólidos crecen y se desarrollan en un ambiente con bajos niveles de O<sub>2</sub> que hacen al tumor en sí mismo insensible a las señales de muerte celular y resistente a tratamientos por radioterapia y quimioterapia; por otro lado, la hipoxia promueve la angiogénesis, la proliferación y la capacidad metastásica. La agresividad del tumor en este contexto parece estar asociada con la activación y estabilización del factor de HIF-1  $\alpha$  tanto por la hipoxia como por la hiperactivación de STAT3.

15 Por este motivo, es altamente deseable una terapia antineoplásica basada en la dirección al factor STAT3 (Niu G. et al. Mol Cancer Res, 6 (7); 1099-105: 2008).

20 La Tabla 1, mostrada a continuación, se toma del trabajo de Aggarwal B. B. et al. 2006 y muestra una lista de tumores que expresan STAT3 activo de forma constitutiva, activadores de STAT3, genes regulados por STAT3 e inhibidores de STAT3.

Tabla 1

STAT3 constitutivo	Activadores	Genes	Quinasas	Inhibidores
Tumores hematopoyéticos	EGF	Antiapoptosis	Tirosina quinasas no receptoras	Sintéticos
-Mieloma múltiple	IL-6	Bcl-X <sub>L</sub>		AG490
-Dependiente de HTLV-1 leucemia	IL-5	Bcl-2	JAK	Salicilato sódico
-LLC	IL-9	Mcl-1	JAK2	Atiprimod
-LMC	IL-10	cIAP-2	JAK3	BMS-354825
-LMA	IL-12	Survivina	TYK2	Etanol
-Granulares grandes linfocitos leucemia	IL-22		Src	Nelfinavir
-Eritroleucemia	TNF- $\alpha$	Progresión del ciclo celular		PS-341
-Policitemia vera	MCP-1		Tirosina receptoras quinasas	R115777
	GCSF	Ciclina D1	EGFR	WP-1034
	GMCSF	c-Myc		Compuestos de platino
-Relacionado con VEB/de Burkitt	LCR	c-Fos	ErbB-2	15-Desoxi-delta
-Micosis fungoide	LIF	p21	Gp130	12,14-PGJ2
-Cutáneo de linfocitos T linfoma	OSM		Grb2	UCN-01
-Dependiente de VHS saimiri (linfocitos T)	IFN- $\gamma$	Invasión tumoral y		Estatina
-Enfermedad de Hodgkin	MIP-1 $\alpha$	metástasis	Serina quinasas	
-Linfoma anaplásico	RANTES	MMP-2	JNK	Péptidos
	SLF	MMP-9	P38MAPK	SOCS3
	UVB	$\beta$ -catenina	ERK	PIAS
Tumores sólidos	Choque osmótico	VEGF		GRIM-19
-Cáncer de mama -	Progestina		Tirosina	Adiponectina
-Cáncer de cerebro	LPS	hTERT		Duplin SSI-1
-Carcinoma de colon	Tabaco	IRF-1NLK	fosfatasa	
-Sarcoma de Ewing	VHC	MyD88		$\alpha$ -Trombina
-Carcinoma gástrico		RANKL		Lipoxina A4 DIF-1
-Cáncer de pulmón		TNF		PTP $\epsilon$ C STAT3-DN
-Cáncer nasofaríngeo		$\beta$ -macroglobulina		Péptido señuelo

STAT3 constitutivo	Activadores	Genes	Quinasas	Inhibidores
-Carcinoma de ovario -Adenocarcinoma pancreático -Carcinoma de próstata -Carcinoma de células renales -Cáncer SCCHN		SOCS Angiotensina Antiquimotripsina		Naturales Flavopiridol Indirubina Magnolol Resveratrol Piceatanol Partenólido EGCG Curcumina Cucurbitacina Otros Rituximab GQ-ODN Ácido retinoico STA-21  EKB569

Clave: STAT, transductor de señal y activador de la transcripción; LLC, leucemia linfocítica crónica; LMC, leucemia mieloide crónica; LMA, leucemia mielógena aguda; SCCHN, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, HTLV, virus linfotrópico de linfocitos T humano; VEB, virus de Epstein-Barr; Nelfinavir, inhibidor de proteasa del VIH-1; R115777, inhibidor de farnesil transferasa; AG490 y piceatanol, inhibidores de tirosina quinasa; PIAS, inhibidor proteico de STAT3 activado; GQ-ODN, oligonucleótidos de cuarteto G; SOCS, supresor de señalización de citocinas; GRIM, gen asociado con inmortalidad inducida por retinoide-IFN; EGCG, epigallocatequina-3-galato; SSI, inhibidor de STAT inducido por STAT; PTPε C, proteína tirosina fosfatasa ε C; DN, dominante negativo; Ekb-569, inhibidor de EGF-R; DIF-1, factor inductor de diferenciación 1; JAB, proteína que contiene dominio SH2; IL, interleucina; TNF, factor de necrosis tumoral; MDA, antígeno de diferenciación de melanoma; MCP, proteína quimioatrayente de monocitos; GCSF, factor estimulante de colonias de granulocitos; LIF, factor inhibidor de leucemia; OSM, oncostatina M; IFN, interferón; MIP, proteína inflamatoria de macrófagos; RANTES, regulada tras la activación, expresada y secretada por linfocitos T normales; EGF, factor de crecimiento epidérmico; LPS, lipopolisacárido; VEGF, factor de crecimiento endotelial vascular; MMP, metaloproteínasa de matriz; hTERT, telomerasa inversa humana; SLF, factor de acero, VHC, virus de la hepatitis C

La Tabla 2 se toma de Johnston PA y Grandis RG 2011 y correlaciona STAT3 con numerosos tumores, lo que confirma el hecho de que STAT3 es de hecho una diana de interés para terapias antineoplásicas.

5

Tabla 2

Caracterización de tumores con STAT3 y actividad	El pronóstico desfavorable correlacionó STAT3	con altos niveles de anomalía cadena arriba y cadena abajo de la señal de STAT3	Modelos de xenotrasplante sensible a la inhibición de STAT3
-Leucemia -Linfoma -Mieloma múltiple	-Carcinoma de las células renales -Cáncer colorrectal	-Expresión elevada de EGFR	-Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello
-Cáncer de mama	-Carcinoma de ovario	-Activado de forma constitutiva EGFR-RTK	-Glioblastoma
-Carcinoma de próstata	-Carcinoma gástrico	-Sobreexpresión de SFK	-Neoplasias mieloproliferativas
-Cáncer de pulmón -Cáncer de pulmón (no microcítico)	-Tipo intestinal adenocarcinoma gástrico -de células escamosas	-JAK hiperactivada -Niveles elevados de	-Carcinoma de las células renales
-Carcinoma de las células renales -Carcinoma hepatocelular	carcinoma del cuello uterino -Osteosarcoma -Carcinoma epitelial del ovario	TNF-α/IL-6	-Cáncer de mama -Adenocarcinoma de pulmón -Leucemia linfoblástica aguda
-Colangiocarcinoma			
-Carcinoma de ovario -Adenocarcinoma pancreático -Melanoma -Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello			

La Tabla 3, tomada de TurksonJ y JoveR 2000, indica numerosos tumores asociados directamente con la activación anómala de STAT3.

Tabla 3

Tipo de tumor	STAT activados	Referencias
Tumores de mama Tumores células	STAT 1, 3	(Garcia et al., 2000; Watson y Miller, 1995) (J Bromberg y JE Darnell, resultados no publicados; P Chaturvedi y EP Reddy, resultados no publicados; R Garcia, C Muro-Cacho, S Minton, C Cox, N Ku, R Falcone, T Bowman y R Jove, resultados no publicados)
Tumores de cabeza y cuello Líneas celulares y tumores	STAT 3	(Garcia et al., 1997; Sartor et al., 1997)
Melanomas malignos Líneas celulares y tumores	STAT 1, 3	(Grandis et al., 1998, 2000a)
Tumores de la hipófisis Líneas celulares	STAT 1	(Florenes et al., 1999; Kirkwood et al., 1999; Pansky et al., 2000)
Tumores cerebrales (tumores primarios)		(Ray et al., 1998)
Gliomas	STAT 1, 3	
Meduloblastomas	STAT 3	(Cattaneo et al., 1998)
Meningiomas cerebrales	STAT 1,3,5	(Magrassi et al., 1999; Schrell et al., 1998)
Mielomas múltiples Líneas celulares y tumores	STAT 1,	(Catlett-Falcone et al., 1999b)
Linfomas (líneas celulares y tumores)		
Linfoma anaplásico de linfocitos T grandes	STAT 3, 5	(Zhang et al., 1996c)
Tipo de tumor	STAT activados	Referencias
Síndrome de Sezary	STAT 3, 5	(Zhang et al., 1996c)
Linfoma relacionado con VEB/de VHS de Burkitt	STAT 3	(Weber-Nordt et al., 1996)
VHS dependiente de Saimiri (linfocitos T)	STAT 3	(Lund et al., 1997b, 1999)
Linfoma cutáneo de linfocitos T	STAT 3	(Sun et al., 1998)
Linfoma de linfocitos T LSTRA (ratón)	STAT 5	(Yu et al., 1997)
Micosis fungoide	STAT 3	(Nielsen et al., 1997)
Leucemia (tumores y líneas celulares)		
Dependientes de HTLV-I	STAT 3, 5	(Migone et al., 1995; Takemoto et al., 1997)
Leucemia linfocítica crónica (LLC)	STAT 1, 3	(Frank et al., 1997)
Leucemia mieloide aguda (LMA)	STAT 1, 3, 5	(Chai et al., 1997; Gouilleux-Gruart et al., 1996; Weber-Nordt et al., 1996)
Leucemia megacariocítica	STAT 1, 3, 5	(Liu et al., 1999)
Leucemia linfocítica granular grande (LGG)	STAT 3	(Epling-Bumette et al., 2000)
OTROS TUMORES (tumores y líneas celulares)		L Mora, R Garcia, J Seigne, T Bowman, M Huang, G Niu, J Pow-Sang, J Diaz, C Muro-Cacho, D Coppola, T Yeatman, J Cheng, S Nicosia, S Shivers, T Landowski, D Reintgen, W Dalton, H Yu y R Jove, resultados no publicados
Próstata	STAT 3	
Carcinoma de células renales	STAT 3	
Carcinoma de ovario	STAT 3	
Melanoma	STAT 3	

5

En particular, en relación con STAT3, lo siguiente se ha demostrado en numerosas publicaciones:

- 1) STAT3 está con frecuencia constitutivamente activo (fosforilado) en muchas células cancerosas, tales como mieloma múltiple, linfoma, leucemia, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y otros tipos tumorales.

10

2) STAT3 es activado por factores de crecimiento (por ejemplo EGF, TGF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-23, IL-21, IL-11, HGF), oncogénicos de quinasa (por ejemplo Src).

3) STAT3 media en la expresión de genes de proliferación (por ejemplo c-myc, ciclina D1), de genes supresores de la apoptosis (por ejemplo Bcl-XL y survivina), de genes codificantes de citocina y de genes que promueven la angiogénesis (por ejemplo VEGF), que aumentan, cuando se activan, la proliferación celular y la angiogénesis y que inhiben la apoptosis.

4) La activación de STAT3 también se correlaciona con fenómenos de quimiorresistencia y radiorresistencia.

5) La activación persistente de STAT3 aumenta, en diversos cánceres humanos, la proliferación, la supervivencia, la angiogénesis y la metástasis e inhibe la inmunidad antitumoral.

También se sabe que la inflamación crónica en determinados órganos o en determinados sitios promueve la transformación maligna, y que STAT3 es crucial para las rutas extrínseca e intrínseca de inflamaciones que conducen a cáncer, sabiéndose de hecho que STAT3 guía las características malignas asociadas con inflamación crónica.

Debido al papel crucial de STAT3 en la tumorigénesis, los inhibidores de STAT3 tienen enorme potencial en la prevención y en el tratamiento del cáncer. Quizás uno de los inhibidores mejor conocidos de la activación de STAT3 es AG490, que inhibe la activación de JAK2. Otros inhibidores de STAT3 incluyen péptidos pequeños, oligonucleótidos y moléculas pequeñas. Algunos autores han identificado péptidos que bloquean la fosforilación/activación de STAT3, siendo este un mecanismo que media en la unión con el ADN y la actividad de regulación génica y transformación celular. Diversas moléculas pequeñas que bloquean STAT3 incluyen PGJ2, complejos de platino, etanol, salicilato sódico, ácido retinoico, atiprimod, PS-341 y estatinas. Se han identificado muchas plantas polifenólicas por su capacidad para suprimir la activación de STAT3. Estas incluyen curcumina, resveratrol, cucurbitacina, piceatanol, partenólido, flazopiridol, magnolol y epigallocatequina-3-galato. El modo en que estas moléculas consiguen suprimir la activación de STAT3 no está del todo claro. Por ejemplo, la curcumina ha demostrado el efecto de inhibición de JAK2, Src, Erb2 y EGFR, que están todos implicados en la activación de STAT3, regulando también negativamente la expresión de Bcl-xL, ciclina D1, VEGF y TNF, cuya expresión está regulada por STAT3 (Aggarwal B. B. et al. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1091; 151-69: 2006).

Hay por lo tanto diversas estrategias y diversos mecanismos que hacen posible intervenir en la cascada de señalización de STAT3: inhibición de la fosforilación/activación de STAT3, inhibición de las interacciones intermoleculares que implican STAT3, inhibición de la importación/exportación nuclear de STAT3, inhibición de la transcripción mediada por STAT3. Aparte de los agentes quimioterapéuticos ya mencionados que inhiben STAT3, hay también otros (cetuximab, gefitinib, erlotinib, etc.), para los que se han indicado diferentes efectos: una eficacia modesta, el desarrollo de resistencias, mielosupresión, toxicidad en el nivel gastrointestinal y diversos acontecimientos adversos incluyendo toxicidad cardiovascular (véase Tabla 4).

La Tabla 4, a continuación, tomada de Johnston PA y Grandis RG 2011, presenta estrategias y resultados para la intervención terapéutica de la señal de STAT3.

Tabla 4

Estrategia	Diana	Ejemplos	Resultados
Inhibición de la fosforilación/activación de STAT3	Competitividad de EGFR Actividad TKR Actividad JAK Actividad SFK	Cetuximab, panitumumab, Gefitinib, erlotinib, lapatinib, AG490, LS-104, ICNB1824, CEP-701, Dasatinib, AZD0530, basutinib	Eficacia modesta; desarrollo de resistencias; mielosupresión; toxicidad gastrointestinal (GI) y efectos adversos; selectividad de quinasa y toxicidad cardiovascular
Inhibición de las interacciones intermoleculares que implican STAT3	dominios SH-2 de STAT3	Oligopéptidos designados de EGFR gp130 y otros receptores de péptidos que contienen pY; péptidos octaméricos, cuarteto de oligonucleótidos G; moléculas peptidomiméticas pequeñas	Permeabilidad celular y eficacia escasas; estabilidad metabólica escasa; selectividad escasa para dominios SH2; acontecimientos adversos potenciales

Estrategia	Diana	Ejemplos	Resultados
Inhibición de la importación/exportación nuclear de STAT3	Importaciones $\alpha 3$ , $\alpha 5$ , $\alpha 7$ Importación $\beta$ Exportación 1	Cariostatina 1A (efectos no determinados en STAT3), Leptomycin B y Ratjadona A	Naturaleza multicomponente del poro nuclear y traslocación determinada de forma incompleta; especificidad problemática para la traslocación de las proteínas
Inhibición de la transcripción mediada por STAT3	No especificada	dsODNdecoy: péptidos octaméricos	Permeabilidad celular escasa sin sistemas de distribución eficaces y específicos: estabilidad metabólica escasa
Productos naturales	No especificada	Guggulsterona, honokiol, curcumina, resveratrol, flavopiridol, cucurbitacina	Especificidad, potencia, eficacia y mecanismo de acción desconocidos

Las terapias que son terapias dirigidas por medio de compuestos que inhiben una molécula diana específica de una manera más específica, en subpoblaciones de células directamente implicadas en la progresión tumoral, representan una nueva perspectiva en el tratamiento del cáncer. Las moléculas que controlan la proliferación y muerte de células, tales como tirosina quinasas receptoras (RTK) para factor de crecimiento están entre los mejores objetivos de este tipo de enfoque terapéutico. La era de la terapia dirigida comenzó con la aprobación del trastuzumab, un anticuerpo monoclonal contra HER2, para el tratamiento de carcinoma mamario metastásico e imatibina, un inhibidor de BCR-ABL, en leucemia mieloide crónica. A pesar del entusiasmo inicial por la eficacia de estos tratamientos, los médicos tuvieron que enfrentarse inmediatamente al problema de la recaída, ya que los enfermos de cáncer casi siempre desarrollaban resistencia a los fármacos, con frecuencia debido a la activación de rutas alternativas. Ya que el tumor se caracteriza por más mecanismos y más dianas génicas, que con frecuencia están desregulados, sería ventajoso adoptar una terapia de combinación, como es convencional en el tratamiento del cáncer, ya que esto da como resultado una estrategia racional para aumentar la respuesta y tolerabilidad y para reducir la resistencia. Existe en la actualidad un aumento en el interés por la combinación de fármacos antitumorales que intentan maximizar la eficacia, minimizar la toxicidad sistémica por medio del uso de dosis farmacológicas menores.

Por lo tanto, los agentes terapéuticos farmacológicamente seguros y eficaces, tales como moléculas de origen natural, que puedan bloquear la activación constitutiva o inducible de STAT3, tienen una eficacia potencial en el tratamiento del cáncer, dado que cada vez más ensayos concluyen que la inhibición de la fosforilación de STAT3 por medio de un bloqueo farmacológico de las moléculas corrientes arriba, incluyendo Src y JAK, puede reducir la formación de tumores, lo que conduce también a la posibilidad de reducción de la dosificación necesaria de fármaco quimioterapéutico.

Además, ya que la activación de STAT3 también se correlaciona con la resistencia a quimioterapia y radioterapia, los inhibidores de dicha activación también son de gran interés para limitar dicha resistencia y optimizar el efecto de la quimioterapia y de la radioterapia.

#### Sumario de la invención

Los autores de la presente invención han demostrado que extractos de *Filipendula* (*Filipendula vulgaris*) son capaces de modular selectivamente, esencialmente inhibir, la fosforilación de la proteína STAT3, evitando en consecuencia la acción posterior dentro de la célula como factor de transcripción. Como se verá en la parte experimental de la solicitud, los autores de la invención han demostrado, en numerosos experimentos y en diversas líneas celulares, que los extractos descritos aquí son inhibidores eficaces de la activación (fosforilación) de STAT3 y en consecuencia

- demuestran acción citotóxica eficaz en líneas celulares tumorales,
- son capaces de inhibir la regeneración de células tumorales, actuando por lo tanto como citostáticos,
- inducen apoptosis en células tumorales
- tienen efectos aditivos y también sinérgicos con numerosos agentes quimioterapéuticos, dando como resultado por lo tanto una reducción de la vitalidad de las células tumorales en comparación con los tratados con el agente quimioterapéutico solo o con el extracto solo.

Desde el punto de vista del efecto de dichos extractos en el factor STAT3, los autores de la presente invención también han demostrado por medio de experimentos que los extractos de *Filipendula vulgaris* descritos aquí son capaces de evitar la unión de STAT3 con el ADN y por lo tanto de evitar la alteración de la expresión de los genes normalmente activados por STAT3 fosforilado.

En otras palabras, se ha demostrado que dicho extracto es capaz de modular, esencialmente inhibir, la proteína STAT3 en su forma fosforilada, evitando la acción sucesiva de dicha proteína dentro de la célula como factor de transcripción. En particular, los inventores de la presente divulgación han demostrado que un extracto de *Filipendula vulgaris* es capaz de inhibir la activación constitutiva o anómala de STAT3 y de inducir la reactivación de la apoptosis en cultivos de células tumorales MPM. Además, los autores de la presente invención también han demostrado que, en experimentos en cultivos de células tumorales, el extracto de *Filipendula vulgaris* inhibe la curación de heridas, evitando de hecho la invasividad de las células tumorales. Además, los autores de la presente invención también han demostrado con experimentos de injerto de células tumorales en ratones que el extracto de la presente invención ejerce *in vivo* un efecto antitumoral.

Un primer objeto de la presente invención es por lo tanto un extracto de *Filipendula vulgaris* para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3.

Un segundo objeto de la presente invención es un extracto de *Filipendula vulgaris* para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3 en asociación con uno o más agentes quimioterapéuticos. Un tercer objeto de la presente invención es una composición que comprende un extracto de *Filipendula vulgaris* y un vehículo y/o diluyente y/o excipiente para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3.

En una realización la composición también comprende uno o más compuestos con actividad antiapoptótica.

Un cuarto objeto de la presente invención es una composición que comprende un extracto de *Filipendula vulgaris* en asociación con uno o más componentes con actividad antitumoral y/o antiinflamatoria y un vehículo y/o diluyente y/o excipiente para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3.

Un quinto objeto de la presente invención es un kit para administración conjunta o secuencial de un extracto de *Filipendula vulgaris* y uno o más agentes quimioterapéuticos que comprenden una o más alícuotas de un extracto de *Filipendula vulgaris* o de una composición que comprende *Filipendula vulgaris* y una o más alícuotas separadas de una o más composiciones que comprenden un agente quimioterapéutico para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3 en asociación con un agente quimioterapéutico.

Un sexto objeto de la invención es un método terapéutico para la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3 que comprende la etapa de administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente activa de extracto de *Filipendula vulgaris*, de composición farmacéutica que comprende extracto de *Filipendula vulgaris*, opcionalmente en asociación con uno o más componentes que tienen actividad antitumoral y/o antitumoral.

Descripción detallada de las figuras

Nota: En las presentes figuras, el extracto de *Filipendula vulgaris* usado se indica con frecuencia por la abreviatura ABO-2.

Figura 1: Inhibición de la fosforilación de STAT3, p-STAT3 (Y705)

Figura 1A Análisis de transferencia de Western de lisados celulares obtenidos de MSTO211H tratado con 100 µg/ml de extracto de *Filipendula vulgaris* durante 24 horas. La cuantificación se realizó en comparación con un control de actina.

Figura 1B Diagrama de Br de los datos obtenidos con transferencia de Western en células MSTO211H. p-STAT3 (STAT3 fosforilado) se muestra en negro, STAT3 se muestra en gris.

La figura muestra que el extracto inhibe la formación de p-STAT3 en comparación con el control.

Figura 2: Ensayo clonogénico (véase la sección experimental para las condiciones) en líneas celulares de mesotelioma humano con diversas dosis de extracto de *Filipendula vulgaris*

gráfica 2a. ensayo realizado en la línea celular de mesotelioma humano MSTO211H

gráfica 2b: ensayo realizado en la línea celular de mesotelioma humano MPP89

Figura 3: El extracto de la invención influye en la capacidad de 3 líneas tumorales inflamatorias diferentes (MDA-MB-231, DU145E, HCT116) para formar colonias, de una manera dependiente de dosis, independientemente de los isotipos de las mismas.

gráfica 3a. ensayo realizado en la línea celular de tumor de mama MDA-MB-231



gráfica 3b. ensayo realizado en la línea celular de tumor de próstata DU145  
gráfica 3c. ensayo realizado en la línea celular de tumor de colon HCT116

- 5 Figura 4: Ensayo de la vitalidad celular usando ensayo ATPlite (véase la sección experimental para las condiciones) en líneas celulares de mesotelioma (MSTO211H, MPP-89, NCI-H28). El ensayo muestra que la vitalidad celular es inhibida por el extracto de *Filipendula vulgaris* de la invención, de una manera dependiente de dosis en diversas líneas celulares de mesotelioma.
- 10 Figura 5: comparación de las tres curvas de vitalidad de la Figura 4 en comparación con (Figura 5a MSTO211H, Figura 5b MPP-89, Figura 5c NCI-H28) la curva de proliferación obtenida tratando células mesoteliales normales (HMC) con extracto de *Filipendula vulgaris*. Las líneas celulares malignas (MPM) claramente muestran el efecto antiproliferativo del extracto de *Filipendula vulgaris* en comparación con las HMC.
- 15 Figura 6: Ensayo de vitalidad celular (ensayo ATPlite) después del tratamiento con extracto de *Filipendula vulgaris* en asociación con Pemetrexed (PMTX) en líneas celulares de mesotelioma MPM MSTO211H. Se presentan en la Figura 6a el efecto de diversas concentraciones de extracto de *Filipendula vulgaris* en las células, en la Figura 6b el efecto de diversas concentraciones de pemetrexed en las células, y en la figura 6c la asociación entre dosis crecientes de pemetrexed y una dosis mínima de 6 µg/ml de extracto *Filipendula vulgaris*. El tratamiento con PMTX es citotóxico para las células MPM y altamente tóxico para las células no tumorales. El cotratamiento de las células con el extracto de la invención + PMTX tuvo un efecto significativo en la vitalidad celular en líneas celulares MPM.
- 20 Figura 7: Ensayo de vitalidad celular (ensayo ATPlite) después del tratamiento con extracto de *Filipendula vulgaris* en asociación con Pemetrexed (PMTX) en líneas celulares de mesotelioma MPM NCI-H2052. Se presentan en la Figura 7a el efecto de diversas concentraciones de extracto de *Filipendula vulgaris* en las células, en la Figura 7b el efecto de diversas concentraciones de pemetrexed en las células, y en la figura 7c la asociación entre dosis crecientes de pemetrexed y una dosis mínima de 6 µg/ml de extracto *Filipendula vulgaris*. El tratamiento con PMTX es citotóxico para las células MPM y altamente tóxico para las células no tumorales. El cotratamiento de las células con el extracto de la invención + PMTX tuvo un efecto significativo en la vitalidad celular en líneas celulares MPM.
- 25 Figura 8: Ensayo de vitalidad celular (ensayo ATPlite) después del tratamiento con extracto de *Filipendula vulgaris* en asociación con Pemetrexed (PMTX) en células mesoteliales (HMC). Como se puede ver en las Figuras 6 y 7 precedentes, el tratamiento con PMTX es citotóxico para las células MPM y altamente tóxico para las células no tumorales. Se presentan en la Figura 8a el efecto de diversas concentraciones de extracto de *Filipendula vulgaris* en las células, en la Figura 8b el efecto de diversas concentraciones de pemetrexed en las células y en la figura 8c la asociación entre dosis crecientes de pemetrexed y una dosis mínima de 6 µg/ml de extracto *Filipendula vulgaris*. El cotratamiento de las células con el extracto de la invención + PMTX tuvo un efecto significativo en la vitalidad celular en líneas celulares MPM, reduciendo al mismo tiempo la mortalidad provocada por Pemetrexed en las células no transformadas (HCM). Por consiguiente, Resulta evidente que el extracto de *Filipendula vulgaris* de la invención hace solo las células tumorales sensibles a pemetrexed.
- 30 Figura 9: ensayos de curación de heridas en línea celular de mesotelioma humano MSTO221H (véase sección experimental para las condiciones). La figura muestra diagramas de barras con respecto a la eficacia en el cierre de la herida (cuantificación del número de células en %, migradas en comparación con el vehículo) tratada con el extracto de la invención y con vehículo en los tiempos indicados. La figura muestra que el número de células migradas se reduce notablemente en presencia del extracto de *Filipendula vulgaris*.
- 35 Figura 10: Ensayos para evaluar la inducción de apoptosis (método de Western). El extracto de la invención a la dosis de 100 µg/ml induce apoptosis como se demuestra por el aumento en los niveles de algunos marcadores apoptóticos como la forma escindida de PARP y de caspasas 3 y 7 en la línea celular MSTO211H.
- 40 Figura 11: Ensayo para evaluar la inducción de apoptosis por medio de medición del nivel de anexina V. El extracto de la invención induce apoptosis en la línea celular MPP89, como se determina por la coloración de anexina V, de una manera dependiente del tiempo y dependiente de la dosis.
- 45 Figura 12: Ensayo para evaluar la inducción de apoptosis por medio de medición del nivel de anexina V. El extracto de la invención induce apoptosis en la línea celular MSTO211H, como se determina por la coloración de anexina V, de una manera dependiente del tiempo y dependiente de la dosis.
- 50 Figura 13: Análisis del ciclo celular después de tratamiento con ABO2 durante 48 horas y 72 horas (Figuras 13a y 13b) en líneas celulares de mesotelioma humano MPP89. La gráfica demuestra que el extracto de la invención bloquea de una manera dependiente del tiempo las células en fase sub G1, previniendo de hecho la progresión de la replicación celular en las células de mesotelioma ensayadas. Después de 72 h de tratamiento, Figura 13b, casi ninguna célula alcanza la fase G2 que precede a la mitosis.
- 55 Figura 14: Análisis del ciclo celular después de tratamiento con ABO2 durante 48 h y 72 h (Figuras 14a y 14b) en líneas celulares de mesotelioma MSTO211H. La gráfica demuestra que el extracto de la invención bloquea de una manera dependiente del tiempo las células en fase sub G1, previniendo de hecho la progresión de la replicación celular en las células de mesotelioma ensayadas. Después de 72 h de tratamiento, Figura 14b, casi ninguna célula alcanza la fase G2 que precede a la mitosis.
- 60 Figura 15: Efecto del extracto de *Filipendula* en el injerto de líneas celulares MPM
- 65

Las células MSTO211H se pretrataron con *Filipendula vulgaris* durante 24 horas. A continuación, se inocularon en ratones CD1 desnudos. El pretratamiento con el extracto de *Filipendula vulgaris* influyó en el injerto del tumor e indujo una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,0024$ ) en el volumen del tumor.

Figura 16: Ensayo de vitalidad celular con ensayo ATPlite (véase sección experimental para las condiciones) en líneas celulares de mesotelioma MSTO211H tratadas con un extracto de *Filipendula vulgaris* (Figura 16a) y un extracto de *Filipendula ulmaria* (ulmaria). El ensayo muestra que la vitalidad celular es inhibida por el extracto de *Filipendula vulgaris* de la invención, de una manera dependiente de dosis en diversas líneas celulares de mesotelioma.

Figura 17: comparación de las dos curvas de vitalidad obtenidas tratando líneas celulares de mesotelioma MSTO211H con extracto de *Filipendula vulgaris* con respecto a la curva de proliferación obtenida tratando las mismas líneas celulares con extracto de *Filipendula ulmaria* (ulmaria). Las líneas celulares de mesotelioma maligno (MPM) son afectadas en mayor medida por el efecto antiproliferativo del extracto de *Filipendula vulgaris* en comparación con el extracto de *Filipendula ulmaria*, como resulta evidente a partir de la figura.

Figura 18: Efecto del extracto de *Filipendula vulgaris* administrado junto con Pemetrexed *in vivo* en ratones.

Los grupos se esquematizan como se indica en la Tabla 5 del Ejemplo 13.

Figura 19: Como se muestra por el ensayo de cometas, el tratamiento con ABO2 no indujo daño de ADN en células mesoteliales normales no transformadas (HMC).

Por el contrario, ABO2 indujo daño de ADN en células MSTO211H.

El tratamiento con CDDP (cis-diaminodicloroplatino) induce fragmentación de ADN en ambas líneas celulares.

El tratamiento con ABO2 protege células normales de fragmentación de ADN inducida por CDDP, mientras que en células MSTO211H muestra un efecto sinérgico con CDDP en la inducción de fragmentación de ADN.

#### Descripción detallada de la invención

La presente solicitud se refiere por lo tanto a un uso del extracto de *Filipendula vulgaris* en la prevención y/o en el tratamiento de patologías en las que está presente una activación constitutiva o anómala del factor STAT3. Como se ha indicado anteriormente, la activación anómala o constitutiva parecería consistir en una fosforilación anómala o constitutiva de este factor con efectos inflamatorios y/o tumorigénicos resultantes tanto en la sangre como en tejidos.

En la siguiente descripción, en las reivindicaciones y en los dibujos, el término «STAT3» indica el factor de transducción de la señal y activación de la transcripción de STAT3 (transductor de señal y activador de la transcripción 3). Convencionalmente, cuando se hace referencia al gen, se usan letras mayúsculas en cursiva, mientras que la proteína se indica por letras mayúsculas no en cursiva.

Ya se conoce en la bibliografía que la inflamación y los tumores están estrechamente ligados por rutas oncogénicas y ambientales, y la fosforilación del factor STAT3 (transductor de señal y activador de la transcripción 3) provoca activación del mismo y el desplazamiento al núcleo donde actúa como un activador de la transcripción de numerosas citocinas, quimiocinas y otros mediadores asociados con inflamación, promoviendo de este modo cáncer.

Los inhibidores de la activación de STAT3 son por lo tanto factores que tienen un efecto preventivo y/o curativo para todas las patologías en las que esté presente activación constitutiva del factor STAT3. La presente invención desvela por primera vez la acción inhibidora específica para STAT3 de extractos de *Filipendula vulgaris*.

*Filipendula vulgaris* también se conoce como *Spiraea vulgaris*, *Spiraea filipendula* o *Filipendula hexapetala*. Para los fines de la presente invención, excepto cuando se indique de forma específica, la expresión *Filipendula vulgaris* significa solamente *Filipendula vulgaris* o un sinónimo de la misma como se ha definido anteriormente y no *Filipendula ulmaria* (ulmaria).

*Filipendula vulgaris* es una planta perenne herbácea, de hasta 70 cm de altura, con tallos erguidos, estriados, lisos y poco ramificados, cuyas hojas tienen estípulas que son pinadas-tabicadas o con una crenación rugosa doble, y las flores hermafroditas son de color blanco crema o rosa, generalmente tienen 6 pétalos y se reúnen en extremos apicales en corimbo.

Esta planta se conoce habitualmente por sus propiedades antirreumáticas, depurativas, diuréticas y astringentes.

Para los fines de la implementación de la presente invención, el extracto puede ser un extracto de parte superior de floración de *Filipendula vulgaris* (inflorescencia foliar), entendiéndose por «parte superior de floración» la parte aérea de la planta recogida a una altura de 10-15 cm desde el suelo, caracterizada por tallo, hojas y flores (inflorescencia foliar, inflorescencia). El tiempo de recolección es de mayo a octubre, dependiendo de los patrones climáticos estacionales. El extracto puede realizarse tanto de la planta nueva como de la seca. En este último caso, el secado se lleva a cabo en un horno ventilado, a una temperatura de aproximadamente 35-45 °C.

El extracto según la invención podría ser un extracto fluido, un extracto blando o un extracto liofilizado o secado por medio de técnicas de secado conocidas. El extracto puede obtenerse por medio de extracción con los siguientes disolventes: agua, etanol, metanol, acetona o isopropanol, en cada caso en forma pura o en una mezcla entre sí. El alcohol podría ser metanol, etanol, isopropanol y es preferentemente etanol. El etanol puede usarse en forma pura o en mezcla con agua a los siguientes porcentajes: 96 %, 90 %, 85 %, 80 %, 75 %, 70 %, 65 %, 60 %, 55 %, 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 1 %. En una realización no limitante de la invención, el disolvente usado para la extracción podría ser una mezcla formada por alcohol etílico y agua en una proporción de 50:50. El extracto de fluido podría prepararse por medio de extracción hidroalcohólica por percolación/digestión de las partes anteriormente indicadas de *Filipendula vulgaris* en relación con fármaco/disolvente de 1:2 a 1:100 y preferentemente en una relación de 1:10. La duración de la extracción es una duración habitualmente usada por un experto en la materia y podría ser, por ejemplo, de un mínimo de 4 horas a aproximadamente 8 horas. La temperatura de extracción se controla normalmente y podría ser preferentemente, por ejemplo, una temperatura de aproximadamente 50 °C. La evaporación del alcohol del extracto hidroalcohólico y el posterior secado del concentrado acuoso podría realizarse por medio de liofilización o desecación para proporcionar el extracto liofilizado o extracto seco.

La preparación de dichos extractos es habitualmente conocida por un experto en la materia y no es necesario describirla en detalle particular en la presente divulgación. Para los fines de implementación de la presente invención, es posible usar cualquier extracto entre los indicados anteriormente, preparado de acuerdo con técnicas convencionales.

En particular, para los fines de la presente invención, el extracto podría ser también una fracción de los extractos como se describe aquí.

En este caso, un procedimiento convencional comprende la evaporación del alcohol presente en el extracto alcohólico a 50 grados alcohólicos, la retirada de las sustancias insolubles en alcohol por medio de centrifugación a 4000 rpm durante 1-5 minutos, la introducción de la solución acuosa (concentrado acuoso), dando como resultado una columna cromatográfica que contiene la resina de adsorción.

El concentrado acuoso anteriormente puede obtenerse a su vez suspendiendo el extracto de *Filipendula vulgaris* secado o liofilizado en agua a una relación de 1:10 p/p.

El fluido de suministro de la resina debe tener sólidos suspendidos comprendidos de forma indicativa entre 0,2 a 1° Brix, el intervalo de suministro está entre 1 y 4 BV/hora y preferentemente 2 BV/hora. El eluato acuoso correspondiente se recoge y se somete a secado por medio de liofilización o desecación, eluyéndose las sustancias adsorbidas en la resina usando alcohol etílico 96 % o metanol o acetona, preferentemente alcohol etílico 96 %. En este último caso, el eluato de alcohol se somete a desecación o a liofilización después de haber añadido en este último caso agua a una relación 1:1 v/v con eluato de alcohol y evaporado de alcohol etílico.

De acuerdo con la presente invención, el extracto de *Filipendula vulgaris* como se ha definido anteriormente podría usarse para la prevención y/o el tratamiento de patologías caracterizadas por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3.

Dichas enfermedades pueden ser, por ejemplo y como se indica en la bibliografía, enfermedades del tipo inflamatorio y/o pretumoral y/o tumoral.

Para los fines de la presente invención, los estados patológicos caracterizados por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3 pueden estar provocados por infecciones víricas (como se indica en la bibliografía), incluyendo infecciones por *H. pylori*, infecciones por el virus de la hepatitis B, infecciones por VPH (virus del papiloma humano), infecciones por el virus de Epstein-Barr (como se indica en Yu et al 2009).

Como ya se ha mencionado, el término «STAT3» indica por lo tanto el factor de transcripción humano «transductor de señal y activador de la transcripción 3», codificado en seres humanos por el gen de STAT3.

La invención se refiere a estados patológicos en seres humanos definidos en detalle en la presente descripción (por ejemplo posteriormente) en los que este gen está activado de forma constitutiva o de forma anómala en cualquier caso.

Los estados patológicos pretumorales en los que una activación constitutiva o anómala de STAT3 está presente pueden ser estados patológicos después de la ablación de un tumor, y por lo tanto pretumorales en el sentido de que el tumor podría volver a formarse, o estados patológicos en los que hay una transferencia de inflamación a la adquisición de características malignas por parte de la célula, como se indica en la bibliografía.

De acuerdo con la presente invención, los estados patológicos tumorales pueden ser cualquier tumor caracterizado por una activación constitutiva o anómala de STAT3 indicada en la técnica anterior, tales como:

cáncer de próstata, mieloma múltiple, leucemia, linfoma, melanoma, carcinoma de los ovarios, carcinoma de las células renales, adenocarcinoma pancreático, cáncer de pulmón, tumor cerebral, eritroleucemia, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de colon, mesotelioma

5 Más específicamente, dicho tumor cerebral podría ser, por ejemplo, un glioma, un meningioma cerebral, un meduloblastoma, dicho linfoma podría ser síndrome de Sezary, linfoma de Burkitt asociado a VEB, linfoma dependiente de VHS de Samiri, linfoma cutáneo relacionado con linfocitos T; dicha leucemia puede ser leucemia dependiente de HTLV-I, leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia megacariocítica, leucemia linfocítica granular grande (LGG).

10 De acuerdo con un ejemplo no limitante de la presente invención, el extracto de *Filipendula vulgaris* como se ha definido anteriormente puede usarse para la prevención y/o el tratamiento de uno cualquiera de los estados patológicos caracterizados por una activación constitutiva o anómala de STAT3 enumerados en la tabla 1 anterior.

15 Las expresiones «activación constitutiva» o «activación anómala» de acuerdo con la presente invención debe entenderse dentro del sentido del significado atribuido a dichas expresiones en la bibliografía relacionada con STAT3 (por ejemplo como se enumera en la bibliografía), o una activación persistente de este factor, habitualmente ausente en células sanas.

20 Dada la especificidad en la inhibición de la activación y de la actividad de STAT3 mostrada por el extracto de la invención, el extracto de la presente invención puede por lo tanto usarse en el tratamiento de patologías tumorales resistentes al tratamiento con agentes quimioterapéuticos que no inhiben STAT3. Un ejemplo no limitante de agentes quimioterapéuticos que no inhiben STAT3 se representa por los fármacos quimioterapéuticos usados para mesotelioma, que es un tumor con pSTAT3 activado de forma constitutiva y altamente quimiorresistente. Los  
25 ejemplos de los agentes usados habitualmente incluyen pemetrexed, que es un inhibidor de timidilato sintasa; metotrexato, que es un inhibidor competitivo y reversible de dihidrofolato reductasa; gemcitabina, que inhibe la síntesis de ADN como un falso sustrato en las rutas biosintéticas de los nucleótidos de pirimidina; vinorelbina, que es un fármaco antimetabólico que se une con los monómeros de tubulina, inhibiendo la formación de microtúbulos; cisplatino, que es un agente capaz de interferir con todas las fases del ciclo celular uniéndose con el ADN por medio  
30 de la formación reticulaciones interfilamento e intrafilamento en el ADN.

Los datos experimentales presentados posteriormente y en las figuras, obtenidas las líneas celulares tumorales en las que se conoce la activación constitutiva de STAT3, también muestran que el extracto de *Filipendula vulgaris* según la invención puede asociarse provechosamente con uno o más fármacos antitumorales, aumentando de este  
35 modo, también de forma sinérgica, la eficacia antitumoral de los fármacos en sí mismos.

Por lo tanto, de acuerdo con una realización de la presente invención, el extracto de *Filipendula vulgaris* como se describe aquí puede usarse en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3, en  
40 asociación con uno o más compuestos que tienen actividad antitumoral y/o uno o más compuestos que tienen acción antiinflamatoria.

De acuerdo con una realización, el compuesto que tiene actividad antitumoral puede ser un agente quimioterapéutico y puede seleccionarse en el grupo que comprende cisplatino, doxorubicina, pemetrexed, metotrexato, vinorelbina, gemcitabina y taxol.  
45

La presente invención comprende por lo tanto el uso de extracto de *Filipendula vulgaris* como se define aquí en asociación con uno o más agentes quimioterapéuticos para la prevención y/o el tratamiento de estados patológicos tumorales o pretumorales caracterizados por una activación constitutiva o anómala de STAT3.  
50

La asociación con uno o más agentes quimioterapéuticos puede ser una asociación conjunta o secuencial, o el extracto y los agentes quimioterapéuticos pueden administrarse al mismo tiempo (en una única administración o en administraciones separadas) o durante un periodo de tiempo de varios minutos, o pueden administrarse secuencialmente o en momentos diferentes, separados entre sí por más de varios minutos, durante el transcurso del  
55 día o el periodo de tratamiento terapéutico.

El régimen de administración será determinado por el doctor tratante de acuerdo con el sexo, la edad, el estado de enfermedad, el peso y el historial del paciente.

60 Tanto solo como en asociación, como se ha descrito anteriormente, el tratamiento puede ser preventivo, por ejemplo en casos conocidos de infección para tener posibles efectos tumorigénicos tales como los indicados anteriormente o en el caso de ablación de tumores para evitar que dichos tumores se vuelvan a formar.

El extracto según la presente invención puede formularse en composiciones que pueden usarse para los mismos  
65 objetivos que se han descrito anteriormente.

La presente invención se refiere también por lo tanto a una composición que comprende, como principio activo, un extracto de *Filipendula vulgaris* y un vehículo y/o diluyente y/o excipiente para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3.

5 Como se ha indicado anteriormente, el extracto de *Filipendula vulgaris* para los fines de la presente invención puede ser un extracto vegetal que pertenece al género *Filipendula vulgaris* de acuerdo con los ejemplos y las definiciones proporcionadas anteriormente.

10 La composición puede comprender, como principio activo, un extracto como se ha definido anteriormente en forma de extracto liofilizado, un extracto seco y/o un extracto fluido. Como ya se ha indicado, el extracto puede obtenerse por extracción de las partes superiores de floración (inflorescencias foliares) de *Filipendula vulgaris*, bien frescas o bien secas. La extracción puede realizarse por medio de percolación-digestión, manteniendo la temperatura controlada a 50 °C, el disolvente de extracción se representa por ejemplo por agua, etanol 96 %, metanol, acetona, isopropanol, bien tal cual o bien en mezcla. El extracto fluido obtenido puede someterse después a evaporación, y posterior liofilización o desecación proporciona el extracto liofilizado o el extracto seco. De acuerdo con la presente invención, la composición como se ha definido anteriormente puede usarse para la prevención y/o el tratamiento de patologías caracterizadas por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3.

20 Dichas enfermedades pueden ser, por ejemplo y como se indica en la bibliografía, enfermedades inflamatorias y/o pretumorales y/o tumorales. La definición de los diversos estados patológicos para los que puede usarse la composición de la invención es la misma que se ha especificado anteriormente en relación con el uso terapéutico del extracto de la invención.

25 Para los fines de la presente invención, la composición puede tratar estados patológicos caracterizados por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3 como ya se ha definido anteriormente, estados patológicos tumorales como ya se han definido anteriormente caracterizados por una activación constitutiva o anómala de STAT3 y estados patológicos pretumorales en los que una activación constitutiva o anómala de STAT3 está presente como ya se ha ilustrado anteriormente dentro del alcance de la presente descripción.

30 De acuerdo con un ejemplo no limitante de la presente invención, la composición como se ha definido aquí puede usarse para la prevención y/o el tratamiento de uno cualquiera de los estados patológicos caracterizados por una activación constitutiva o anómala de STAT3 enumerados en la tabla 1 anterior.

35 Además, de acuerdo con una realización preferida, la composición de la invención como se describe aquí puede comprender además, como principios activos, uno o más agentes antitumorales y/o uno o más agentes antiinflamatorios.

40 La presente invención se refiere también por lo tanto a una composición que comprende, como principios activos, extracto de *Filipendula vulgaris* y uno o más compuestos que tengan actividad antitumoral y/o antiinflamatoria para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3.

45 De acuerdo con una realización, dichos compuestos que tengan actividad antitumoral pueden ser agentes quimioterapéuticos seleccionados, por ejemplo, en el grupo que comprende cisplatino, doxorubicina, pemetrexed, metotrexato, vinorelbina, gemcitabina y taxol.

La composición de la invención puede formularse en dosis unitarias o de una manera dosificable por el médico tratante con el fin de permitir también terapias adaptadas a las necesidades individuales de cada paciente.

50 La presente invención incluye por lo tanto el uso de composiciones que comprenden un extracto de *Filipendula vulgaris* como se define aquí, opcionalmente en asociación con uno o más principios activos que tienen actividad antitumoral y/o uno o más principios activos adicionales que tienen actividad antiinflamatoria para la prevención y/o el tratamiento de estados patológicos tumorales y/o inflamatorios y/o pretumorales caracterizados por una activación constitutiva o anómala de STAT3.

55 Dichos principios activos adicionales pueden ser, por ejemplo, compuestos quimioterapéuticos y los estados patológicos pueden ser estados patológicos pretumorales o tumorales.

60 La asociación con los uno o más agentes quimioterapéuticos puede ser una asociación conjunta o secuencial, o el extracto y los agentes quimioterapéuticos pueden administrarse al mismo tiempo (en una única administración o en administraciones separadas) o durante un periodo de tiempo de varios minutos, o pueden administrarse secuencialmente o en momentos diferentes, separados entre sí por más de varios minutos, durante el transcurso del día o el periodo de tratamiento terapéutico.

65

El régimen de administración será determinado por el doctor tratante de acuerdo con el sexo, la edad, el estado de enfermedad, el peso y el historial del paciente.

5 Tanto solo como en asociación, como se ha descrito anteriormente, el tratamiento puede ser preventivo, por ejemplo en casos conocidos de infección para tener posibles efectos tumorigénicos tales como los indicados anteriormente o en el caso de ablación de tumores para evitar que dichos tumores se vuelvan a formar.

10 La composición con uno o más principios activos como se ha descrito anteriormente (extracto de *Filipendula vulgaris*, opcionalmente en asociación con uno o más agentes antitumorales y/o uno o más agentes antiinflamatorios) puede comprender evidentemente uno o más excipientes o adyuvantes usados técnicamente en la práctica farmacéutica o cosmética habitual o en la industria alimentaria. Los excipientes usados pueden pertenecer a la categoría de diluyentes, solubilizantes, disgregantes, aglutinantes, lubricantes, tensioactivos, agentes deslizantes y antiadherentes.

15 Si es necesario, la composición también puede contener saporíferos, colorantes y conservantes usados habitualmente en las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria.

20 La composición según la invención puede prepararse de acuerdo con técnicas conocidas por un experto en la materia y usando un extracto de *Filipendula vulgaris* como se ha definido anteriormente, opcionalmente uno o más agentes antitumorales y uno o más excipientes que perteneces a las categorías anteriormente mencionadas.

25 Las composiciones pueden estar en cualquier formulación considerada adecuada por un experto habitual en la materia que prepare formulaciones destinadas a la administración oral (por ejemplo polvos, granulados, cápsulas en gelatina dura o blanda, comprimidos, jarabes, gotas, soluciones y emulsiones orales), inhalación (por ejemplo aerosoles, pulverizaciones líquidas y en polvo), administración tópica (geles, pomadas, emulsiones, pastas, espumas, formas sólidas anhidras para aplicación tópica y parches) y por vía parenteral de acuerdo con las técnicas usadas en la actualidad y conocidas por un experto en la materia (por ejemplo para uso subcutáneo, uso intramuscular, uso intravenoso o uso intradérmico). En todas las formulaciones, el uso de excipientes o adyuvantes tecnológicos se determina seleccionando las sustancias para usar basándose en las usadas habitualmente en la práctica farmacéutica.

35 En la preparación de formulaciones basadas en extracto de *Filipendula vulgaris* en asociación o no con agentes que tengan actividad antitumoral, un experto en la materia podría usar cualquiera de los excipientes considerados útiles de acuerdo con la técnica anterior para obtener una preparación estable adecuada para su uso en terapia. A modo de ejemplo, en la categoría de diluyentes, es posible usar diluyentes en formulaciones sólidas, tales como azúcares, polialcoholes (por ejemplo lactosa, manitol, sorbitol), celulosas, sales de ácidos inorgánicos (por ejemplo fosfato cálcico dibásico), sales de ácidos orgánicos incluyendo citratos, valoraciones de carbonato y bicarbonato en forma de sales de sodio, potasio y calcio, o diluyentes en formas líquidas, tales como agua, aceites comestibles para uso oral (aceite de girasol, aceite de oliva, aceite de maíz, aceite de almendra dulce, aceite de nuez) o usados en formulaciones tópicas (aceite de jojoba, triglicéridos de cadena corta, cadena media o cadena larga), polialcoholes (glicerina, propilenglicoles, hexilenglicol).

45 En la categoría de los disgregadores, es posible usar, por ejemplo, almidones naturales o modificados (almidón de maíz, almidón de arroz, almidón de patata), croscarmelosa sódica, almidón de glicolato sódico, crospovidona; posibles aglutinantes que pueden usarse incluyen productos naturales del tipo goma (goma guar, goma de xantano, goma arábiga), sacarosa y productos de síntesis, incluyendo polivinil pirrolidona y derivados semisintéticos de celulosa.

50 El uso de ácido esteárico y sales del mismo, incluyendo la sal de magnesio, polímeros de etilenglicol, triglicéridos y ceras naturales o sintéticas como lubricantes ha resultado ser eficaz.

55 Los tensioactivos se usan para hacer uno o más principios activos contenidos en las formulaciones que forman la base de la invención más solubles o lavables con agua, actuando estos principios activos solo o portados por uno o más diluyentes. Por ejemplo, pueden citarse ésteres de sorbitán, ésteres de sorbitán polioxietilenados, ésteres de sacarosa y lauril sulfato sódico.

Los agentes de deslizamiento pueden seleccionarse por ejemplo de sílice coloidal, sílice precipitada, mientras que los antiadherentes que pueden usarse incluyen, por ejemplo, talco o almidón.

60 En la preparación de formulaciones inyectables, es posible elegir los excipientes que permiten la solubilización o dispersión eficaz de la sustancia o las sustancias activas. A modo de ejemplo, junto con agua, pueden usarse otros vehículos hidrosolubles tales como polialcoholes y sales de ácidos orgánicos o inorgánicos con el fin de obtener pH y osmolaridad adecuados para la administración por medio de inyecciones.

65 En casos particulares, será posible usar vehículos no hidrosolubles, tales como aceites o sustancias de síntesis habitualmente aprobadas para uso en inyección.

Un experto en la materia puede preparar todas las formulaciones usando los esquemas de preparación habituales conocidos por él.

5 Únicamente a modo de ejemplo, una formulación en cápsulas puede prepararse convenientemente moliendo de antemano el extracto de *Filipendula vulgaris*, mezclando en un mezclador común obtenido junto con uno o más agentes antitumorales y los excipientes seleccionados para preparar la formulación,

por ejemplo un diluyente, un disgregante, un lubricante y un agente de deslizamiento seleccionado de los mencionados anteriormente o disponible en el mercado y aprobado para uso oral.

10 En el caso de un comprimido, podría ser necesario granular parte de o toda la mezcla con un agente de unión disuelto de antemano en agua o introducida en mezcla y usando el agua como un adyuvante del proceso de granulación de acuerdo con la técnica anterior.

15 El granulado puede secarse, tamizarse y mezclarse adicionalmente con otros polvos con el fin de obtener una mezcla adecuada para obtener comprimidos de acuerdo con los conocidos por un experto en la materia.

En el caso del uso parenteral, la composición también puede proporcionarse con los principios activos en recipientes separados convenientemente miscibles de acuerdo con requisitos operativos específicos.

20 Con el fin de facilitar el uso de las composiciones descritas aquí, estas pueden presentarse en forma de dosis unitarias que contienen uno de los principios activos descritos aquí (extracto de *Filipendula vulgaris* y opcionalmente uno o más agentes antitumorales y/o uno o más agentes antiinflamatorios) eficaces para un uso preventivo y/o terapéutico de una afección patológica particular caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3.

30 La presente invención se refiere además a un kit para la administración conjunta o secuencial de un extracto de *Filipendula vulgaris* y uno o más compuestos que tengan actividad antitumoral y/o uno o más compuestos que tengan actividad antiinflamatoria para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3, comprendiendo dicho kit una o más alícuotas de un extracto de *Filipendula vulgaris* como se define en la presente descripción y una o más alícuotas de uno o más compuestos que tengan actividad antitumoral y/o una o más alícuotas de uno o más compuestos que tengan actividad antiinflamatoria.

35 Como alternativa, el kit puede comprender una o más alícuotas de la composición que contiene, como principio activo, un extracto de *Filipendula vulgaris* como se define en la presente descripción y una o más alícuotas de uno o más compuestos que tengan actividad antitumoral y/o una o más alícuotas de uno o más compuestos que tengan actividad antiinflamatoria.

40 Como se ha descrito anteriormente, dichos compuestos pueden ser agentes quimioterapéuticos seleccionados por ejemplo en el grupo que comprende cisplatino, doxorubicina, pemetrexed, metotrexato, vinorelbina, gemcitabina y taxol.

45 Las patologías que pueden tratarse o prevenirse usando el kit o usando la composición de la presente invención son las ya indicadas en la descripción anterior, estados patológicos caracterizados por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3 que pueden estar provocados por ejemplo por infecciones víricas (como se indica en la bibliografía), incluyendo infecciones por *H. pylori*, infecciones por el virus de la hepatitis B, infecciones por VPH (virus del papiloma humano), infecciones por el virus de Epstein-Barr (como se indica en Yu et al 2009) o estados patológicos tumorales que pueden ser cualquier tumor caracterizado por una activación constitutiva o anómala de STAT3 indicada en la técnica anterior.

Un ejemplo no limitante de dichos tumores comprende:

55 cáncer de próstata, mieloma múltiple, leucemia, linfoma, melanoma, carcinoma de los ovarios, carcinoma de las células renales, adenocarcinoma pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de cerebro, eritroleucemia, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de colon, mesotelioma.

60 Más específicamente, dicho tumor cerebral podría ser, por ejemplo, un glioma, un meningioma cerebral, un meduloblastoma, dicho linfoma podría ser síndrome de Sezary, linfoma de Burkitt asociado a VEB, linfoma dependiente de VHS de Samiri, linfoma cutáneo relacionado con linfocitos T; dicha leucemia puede ser leucemia dependiente de HTLV-I, leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia megacariocítica, leucemia linfocítica granular grande (LGG).

65 Los estados patológicos pretumorales en los que una activación constitutiva o anómala de STAT3 está presente pueden ser estados patológicos después de la ablación de un tumor, y por lo tanto pretumorales en el sentido de que

el tumor podría volver a formarse, o estados patológicos en los que hay una transferencia de inflamación a la adquisición de características malignas por parte de la célula, como se indica en la bibliografía.

Por último, la presente descripción también se refiere a un método terapéutico para la prevención y/o el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3 que comprende la etapa de administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente activa de extracto de *Filipendula vulgaris* o de una composición farmacéutica que comprende extracto de *Filipendula vulgaris* opcionalmente en asociación con uno o más compuestos antitumorales y/o antiinflamatorios.

El método que forma la base de la presente invención puede llevarse a cabo administrando a un sujeto que presente una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3, dosis terapéuticamente eficaces del extracto como se define aquí, opcionalmente en asociación con uno o más fármacos antitumorales y/o antiinflamatorios; o administrando dosis terapéuticamente eficaces del extracto como se define aquí, que comprende además opcionalmente uno o más fármacos antitumorales y/o antiinflamatorios, o administrando el extracto y uno o más fármacos antitumorales y/o antiinflamatorios usando el kit como se define aquí.

La administración como se ha descrito anteriormente puede realizarse conjuntamente o secuencialmente de acuerdo con el régimen de administración seleccionado por el médico.

Se han presentado numerosos datos experimentales que demuestran la eficacia del extracto de acuerdo con la presente invención.

#### LÍNEAS CELULARES USADAS

- Línea celular de linfoma humano L428. Disponible de DSMZ ACC197
- Línea celular de linfoma humano KARPAS con STAT3 activado de forma constitutiva. Disponible de línea celular de linfoma de linfocitos T Cell Bank Australia n.º 6072604, establecida a partir de sangre periférica de un ser humano de 25 años de edad con células de linfoma de linfocitos T no Hodgkin en 1986, clasificada ahora como línea celular de linfoma linfoblastoide. Karpas 299 expresa Stat3 fosforilado en tirosina 705 y serina 727.
- Línea celular de mesotelioma bifásico humano MSTO211H con STAT3 activado de forma constitutiva. Disponible de ATCC n.º CLR-2081

Línea celular de mesotelioma humano, establecida a partir del derrame pleural de un ser humano de 62 años de edad con mesotelioma (maligno bifásico) que no había tenido ninguna terapia previa. La línea celular MSTO211H expresa altos niveles de pStat3). (Tsao et al. Inhibition of c-Src expression and activation in malignant pleural mesothelioma tissues leads to apoptosis, cell cycle arrest, and decreased migration and invasion. MolCancerTher 2007;6:1962-1972.)

- Línea celular de carcinoma humano DU-145 disponible de ATCC n.º HTB-81  
La línea celular DU145 es una línea celular de cáncer de próstata humano de potencial metastásico moderado en comparación con células PC3, que tienen alto potencial metastásico. Las células DU145 no son sensibles a hormonas y no expresan PSA (antígeno específico de próstata). La línea celular DU145 expresa pStat3 de una manera constitutiva.
- Célula de cáncer de colon humano HCT116. Disponible de ATCC n.º CCL-247.
- Línea celular de adenocarcinoma mamario humano MDA-MB-231. Disponible de ATCC n.º HTB-26.
- Línea celular de mesotelioma de estadio 4 humano NCI-h28. Disponible de ATCC n.º CRL-5820
- Línea celular de mesotelioma humano MPP-89. Disponible de CABRI, número de referencia ICLC HTL00012

#### Ejemplos

1. Análisis de la fosforilación de STAT3 por medio de transferencia de Western. Resultados presentados en las figuras 1-3.

1.1. Lisis celular y transferencia de Western.

Las células se lisaron en hielo durante 30 min en tampón de lisis NP40 (Tris-HCl 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, NP-40 1 %, EGTA 1 mM, EDTA 1 mM) complementado con inhibidores de proteasa y fosfatasa (PMSF 5 mM, NaF 3 mM, DTT 1 mM, NaVO4 1 mM). Se degradaron cantidades iguales de extractos totales de proteína (30 µg) por medio de electroforesis desnaturizante (SDS-PAGE) en gel de poliacrilamida 8 % y se transfirieron durante 2 horas en membrana de nitrocelulosa. Las membranas se bloquearon con una solución de leche al 5 % disuelta en TBS-Tween\_20 0,05 % durante 1 hora y se incubaron con los anticuerpos primarios específicos. Se usaron los siguientes anticuerpos primarios: anti-beta actina (A-2228, SIGMA), anti-pSTAT3 (Tyr-705) (sc8059, Santa Cruz) y anti-STAT3 (sc7179, Santa Cruz). Los anticuerpos secundarios fueron conjugados con peroxidasa (Santa Cruz) y se usaron reactivos ECL (Amersham, GE Healthcare, Piscataway, NJ, Estados Unidos) para la quimioluminiscencia.



### 1.2. Tratamiento de las líneas celulares de MPM y de células mesoteliales comerciales normales (HMC) con extracto de *Filipendula vulgaris*.

5 Las líneas celulares de MPM (MSTO-211H, NCI-H28, NCI-H2052, MPP89) se adquirieron de ATCC (Rockville, MD) mientras que las HMC (células mesoteliales humanas) se adquirieron de Tebu-Bio (Francia). Todas las líneas se cultivaron en monocapas a 37 °C y a 5 % de CO<sub>2</sub> en medio de cultivo específico. El extracto de *Filipendula vulgaris* se disolvió convenientemente en una solución de agua para soluciones inyectables y etanol en una relación de 1:1 a una concentración inicial de 30 mg/ml. Para ensayar la propiedad antitumoral, el producto se añadió después  
10 directamente en el medio de las diversas líneas celulares usando diversas concentraciones y diversos tiempos, como se muestra en los dibujos.

### 1.3. Resultados

15 Los resultados, mostrados en las Figuras 1 a 3, muestran cómo el extracto ensayado inhibe la fosforilación de STAT3 en comparación con los controles no tratados con el extracto.

Las Figuras 1 y 2 muestran los datos obtenidos en células MSTO211H tratadas con extracto de *Filipendula vulgaris* de acuerdo con la descripción.

20 La Figura 1 muestra los datos con el control tratado solamente con el vehículo y extracto de *Filipendula vulgaris*, 100 µg/ml de medio de cultivo durante 24 horas (control de actina).

### 2. Ensayo de clonogenicidad en células de mesotelioma pleural maligno (MPM)

25 Se sembraron células MPM (MSTO211H y MPP-89) a 200 células por pocillo y se trataron con diversas concentraciones crecientes (control solo con vehículo; 12,5 µg/ml; 25 µg/ml; 50 µg/ml; 100 µg/ml; 200 µg/ml) de extracto de *Filipendula vulgaris* de acuerdo con la presente descripción. Cada punto se sembró por duplicado en placas multipocillo de 6 pocillos. Las colonias formadas se tiñeron con violeta cristal 15-21 días después. El ensayo de formación de colonias, también conocido como ensayo clonogénico, es una técnica usada para evaluar la eficacia  
30 de compuestos antitumorales con respecto a la capacidad de las células tumorales para formar colonias a partir de una única célula. Se considera que una colonia es un grupo de 50 o más células (clones) que se originan de una única célula.

35 Los resultados del experimento, mostrados en las Figuras 2a y 2b, muestran la capacidad dependiente de la dosis del extracto de la invención para inhibir, de una manera dependiente de dosis, la formación de colonias en todas las líneas celulares MPM ensayadas.

40 El mismo ensayo también se realizó en células de cáncer de mama MDA-MB-231, células de cáncer de próstata DU145 y células de cáncer de colon HCT116. También en este caso, los datos mostrados en las Figuras 3a, b y c muestran la eficacia de la inhibición, de una manera dependiente de dosis, de la formación de colonias del extracto de la invención.

### 4. Ensayo de vitalidad celular ATPLite™

45 La vitalidad de diversas líneas celulares después de exposición al extracto de la invención a diversas concentraciones se evaluó usando el ensayo ATPLite™ (Perkin Elmer) de acuerdo con las instrucciones del productor. Cuando se indica, el término «vehículo» se refiere a una solución de agua para soluciones inyectables y etanol a una concentración de 1:1 usada en los mismos volúmenes usados para los tratamientos.

50 ATPLite™ es un sistema para supervisar los niveles de adenosín trifosfato (ATP) basándose en la actividad de luciferasa de luciérnaga (*Photinus pyralis*). Este ensayo de luminiscencia es una alternativa a ensayos colorimétricos, fluorométricos y radioisotópicos para la evaluación cuantitativa de la proliferación de células de mamífero cultivadas sometidas a tratamiento con posibles sustancias contenidas en el medio de cultivo. La supervisión de ATP se usa de hecho para evaluar los efectos citostáticos y antiproliferativos de una amplia serie de  
55 fármacos, modificadores de la respuesta biológica y compuestos biológicos. El sistema de ensayo ATPLite™ se basa en la producción de luz provocada por la reacción con adición de ATP luciferasas y D-luciferina. La luz emitida es proporcional a la concentración de ATP dentro de ciertos límites. La cantidad de ATP en células se correlaciona con la vitalidad celular.

60 La vitalidad celular de diversos tipos de líneas celulares MPM (MSTO211H, MPP89, NCI-H28) y de células HMC (células mesoteliales no transformadas proporcionadas por donantes voluntarios) se ensayó después del tratamiento con diversas concentraciones de extracto según la invención (control solo con vehículo; 12,5 µg/ml; 25 µg/ml; 50 µg/ml; 100 µg/ml; 200 µg/ml).

65 La gráfica en la Figura 4, que muestra los resultados del ensayo, muestra que el extracto es capaz de reducir significativamente la vitalidad celular de una manera dependiente de dosis.

Los efectos en la vitalidad celular también se ensayaron en células mesoteliales no transformadas (HMC), para las cuales el extracto que forma la base de la invención demostró menor citotoxicidad en comparación con las líneas tumorales (figuras 5A-5C).

5 7. Ensayos de vitalidad celular en cotratamiento con agentes quimioterapéuticos

Se usaron las líneas celulares MSTO211H y NCI-H2052 para evaluar los efectos de la asociación de extracto de *Filipendula vulgaris* + fármaco antitumoral.

10 El ensayo mostrado en la Figura 10 se realizó usando ensayo ATPlite™ (Perkin Elmer) de acuerdo con las instrucciones del productor.

Se usó una solución de agua para soluciones inyectables y etanol a una concentración de 1:1 en los mismos volúmenes usados para los tratamientos.

15 Reactivos:

pemetrexed (Alimta, Lilly) diluido de acuerdo con las instrucciones del productor.

20 7.1 Asociación de extracto de *Filipendula vulgaris* y pemetrexed con ensayo ATPlite™

La Figura 9 muestra la curva de vitalidad para MSTO211H después de 72 h de tratamiento con pemetrexed y pemetrexed en asociación con extracto de *Filipendula vulgaris*. La gráfica A muestra el tratamiento con el extracto a dosis no citotóxica (6 µg/ml) y pemetrexed para las células MSTO211H, mientras que la gráfica B muestra el tratamiento con el extracto a dosis no citotóxica (6 µg/ml) y con pemetrexed (diversas concentraciones) para células NCI-H2052 y la gráfica C muestra el tratamiento con el extracto a dosis no citotóxica (6 µg/ml) y con pemetrexed (diversas concentraciones) para células HMC no transformadas. Las concentraciones del compuesto ensayado se representan en las abscisas, mientras que la vitalidad celular expresada en porcentaje se representa en las ordenadas.

30 Las Figuras 7 y 8 muestran cómo el tratamiento con extracto sensibiliza las líneas tumorales al tratamiento con pemetrexed. En la curva con doble tratamiento, resulta evidente cómo solamente una concentración de pemetrexed de 10 µM es suficiente para reducir la vitalidad celular de las líneas ensayadas. Es interesante señalar que, en la línea no tumoral (véase Figura 8) el extracto tiene un efecto protector frente a pemetrexed.

35 8. Ensayo de curación de heridas

El ensayo de curación de heridas (Figura 9) es sencillo, económico y uno de los primeros métodos desarrollados para estudiar la migración celular direccional *in vitro*. Este método imita la migración celular durante la curación de heridas *in vivo*. Las etapas básicas implican crear una «herida» en una monocapa celular, después supervisar una zona específica de la «herida» capturando imágenes al comienzo y a intervalos regulares durante la migración celular necesaria para cerrar la «herida». Las células MSTO211H cultivadas con una confluencia del 95 % se sembraron en placas textiles de 6 pocillos y la «herida» (o el corte) se realizó con una perforación por pipeta estéril de 10 microlitros para retirar las células. Se produjeron microfotografías digitales después de las heridas en los momentos indicados. El diagrama de barras final muestra la eficacia de cierre del corte (número de cuantificación de las células en %) tratado con vehículo o ABO 1 en los momentos indicados.

9. Ensayo para evaluar la inducción de apoptosis

50 Véase Figura 10

9.1 Transferencia de Western

Se usó la misma técnica como se describe en el punto 1.1 y se usaron los siguientes anticuerpos primarios: anti-beta actina (A-2228, SIGMA), anti-caspasa-3 (31A1067, Alexis), anti-caspasa-7 (n.º 9492, Cell Signalling) y anti-PARP (n.º 9542S, Cell Signalling).

9.2 Análisis de FACS, tinción de PI y análisis de tinción de PI/Anexina V

60 Para el fin de determinar el efecto del extracto de la invención en el ciclo celular, se realizó un análisis de FACS.

Para tinción con yoduro de propidio (PI), las células se sembraron en placas de 6 pocillos a una densidad de 10<sup>4</sup> células/ml. Después de 24 h, las células tumorales se trataron con concentraciones indicadas del extracto de la invención durante diversos intervalos temporales. Las células se recogieron en suspensión y las células adheridas se lavaron en PBS, se fijaron con etanol congelado (70 % v/v) y se almacenaron a -20 °C. Para los análisis, las células se lavaron en PBS 1X y se suspendieron en una solución de PBS 1Z, PI (25 mg/ml) y RNasa A (200 mg/ml).

Para la doble tinción de PI/anexina V, las células tratadas se recogieron y se resuspendieron en tampón de unión (HEPES pH 7,4, CaCl<sub>2</sub> 2,5 mM, NaCl 140 mM). Se incubaron alícuotas de células durante 15 min con anexina V FITC y PI (5 mg/ml) (Invitrogen).

5 Durante todos los análisis de FACS, se analizaron 10<sup>5</sup> acontecimientos para cada muestra. Los análisis de citometría de flujo se realizaron en un citómetro de flujo GuavaEasyCyte 8HT (Millipore).

Como puede observarse en la Figura 11, el extracto de la invención induce apoptosis en células MSTO211H, como se determina por la tinción de anexina V, de una manera dependiente del tiempo y dependiente de la dosis.

10

12. Trasplante de células tumorales tratadas o no tratadas con el extracto de la invención

Descripción del primer experimento de injerto.

15 Las células MSTO211H se trataron con *Filipendula vulgaris* a la concentración de 50 µg/ml durante 24 horas. Se recogió una suspensión de 2 x 10<sup>6</sup> de células en PBS/Matrigel (BD Biosciences) y se inoculó en la cadera derecha de ratones hembra desnudos de 4 semanas de edad. El volumen de los tumores se supervisó dos veces a la semana hasta el 21<sup>er</sup> día. Los ratones se sacrificaron y las masas se retiraron.

20 13. Trasplante de células tumorales en ratones y tratamiento con *Filipendula vulgaris* y pemetrexed

Descripción del segundo experimento de injerto.

25 Las células se expandieron antes de la implantación y se evaluaron con respecto a su vitalidad y contaminación, es decir se contaron y se resuspendieron en PBS a una concentración de 20 x10<sup>6</sup>/ml. Se añadió matrigel a la suspensión para obtener una concentración final de 10x10<sup>6</sup> células/ml PBS Matrigel 1/1. Las células MSTO se inocularon bajo la piel en 48 ratones.

30 Cuando el tumor alcanzó un volumen promedio de 60 mm<sup>3</sup>, los ratones se dividieron en 8 grupos formados por 6 animales por grupo, que recibieron diferentes tratamientos.

Dos grupos recibieron *Filipendula vulgaris* en agua para beber durante 7 días de la semana durante un periodo de tres semanas; los otros grupos recibieron pemetrexed por vía intraperitoneal durante 5 días de la semana durante un periodo de 3 semanas.

35

Los grupos se han perfilado de esta manera en la Tabla 5 a continuación:

	n.º de animales	línea celular	n.º de células	ruta	volumen	tratam. A	inicio del tratam.	método de administrac.	régimen de tratam.	tratam. B	inicio del tratam.	método de administrac.	régimen de tratam.
Grupo 1	6	MSTO	2X10 <sup>6</sup>	SC	0,2 ml (matrigel)					extracto de Filipendula 20 µg/ml	después de la aparición del tumor	OS	agua potable
Grupo 2	6	MSTO	2X10 <sup>6</sup>	SC	0,2 ml (matrigel)					extracto de Filipendula 50 µg/ml	después de la aparición del tumor	OS	agua potable
Grupo 3	6	MSTO	2X10 <sup>6</sup>	SC	0,2 ml (matrigel)					extracto de Filipendula 750 µg/ml	después de la aparición del tumor	OS	agua potable
Grupo 4	6	MSTO	2X10 <sup>6</sup>	SC	0,2 ml (matrigel)								
Grupo 5	6	MSTO	2X10 <sup>6</sup>	SC	0,2 ml (matrigel)	Pemetrexed (100 mg/kg)	después de la aparición del tumor	IP	5 días sucesivos	extracto de Filipendula 20 µg/ml	después de la aparición del tumor	OS	agua potable
Grupo 6	6	MSTO	2X10 <sup>6</sup>	SC	0,2 ml (matrigel)	Pemetrexed (100 mg/kg)	después de la aparición del tumor	IP	5 días sucesivos	extracto de Filipendula 50 µg/ml	después de la aparición del tumor	OS	agua potable
Grupo 7	6	MSTO	2X10 <sup>6</sup>	SC	0,2 ml (matrigel)	Pemetrexed (100 mg/kg)	después de la aparición del tumor	IP	5 días sucesivos	extracto de Filipendula 75 µg/ml	después de la aparición del tumor	OS	agua potable
Grupo 8	6	MSTO	2X10 <sup>6</sup>	SC	0,2 ml (matrigel)	Pemetrexed (100 mg/kg)	después de la aparición del tumor	IP	5 días sucesivos				

SC = subcutánea  
tratam. = tratamiento  
administrac. = administración  
IP = intraperitoneal  
OS = oral

Con la aparición de progresión del tumor (es decir cuando el tumor alcanzó 60 mm<sup>3</sup>), el tratamiento se inició con ABO2 y se administró Pemetrexed de la siguiente manera: pemetrexed a una dosis de 100 mg/Kg en 88 ml/ratón durante 5 días consecutivos por vía intraperitoneal) extracto de *Filipendula vulgaris* en agua potable a concentraciones de 25, 50 y 75 microgramos/ml y se midió en días alternos durante un periodo de 3 semanas.

5 Los ratones se supervisaron diariamente para evaluar cualquier señal; el peso corporal se supervisó dos veces a la semana.

10 Al final del experimento (42 días después de la inoculación), las masas tumorales se recogieron y se fijaron en formalina 10 % (transferida después de 24 horas a etanol 70 %).

Los diámetros tumorales se midieron dos veces por semana usando un calibrador Mitutoyo.

15 14. Preparación de extracto de *Filipendula vulgaris*

Inflorescencias foliares de *Filipendula vulgaris*, previamente cortadas hasta un tamaño de grano correcto, se sometieron a extracción hidroalcohólica con etanol 50 %.

20 La extracción se realizó a 50 °C durante 8 horas. Al final de la reacción, se retiraron las inflorescencias foliares agotadas de la solución hidroalcohólica obtenida por filtración. La solución se concentró por evaporación en película fina hasta la retirada completa del etanol. La solución acuosa concentrada obtenida de este modo se secó en un liofilizador hasta obtener una pastilla sólida.

25 Por último, la pastilla liofilizada se pulverizó usando un molino de martillo y se mezcló para obtener un extracto liofilizado en polvo homogéneo.

15. Líneas celulares y condiciones de cultivo.

30 Las líneas celulares MSTO-211H, NCI-H28, NCI-H2052 MPP89 se obtuvieron de ATCC (Rockville, MD). Las líneas HMC (células mesoteliales humanas) se obtuvieron de Tebu-Bio (France). Todas las líneas celulares se mantuvieron en una incubadora humidificada a 37 °C en CO<sub>2</sub> 5 %. Las células se cultivaron como monocapa en DMEM/F12 + GLUTAMAX (INVITROGEN) complementado con FBS no termoinactivado 10 % (GIBCO), insulina 5 mg/ml (SIGMA), penicilina G sódica 100 UI/ml y sulfato de estreptomycin 100 mg/ml.

35 16. Reactivos celulares

Pemetrexed (ALIMTA, Lilly) y cisplatino (Pfizer) se disolvieron de acuerdo con las instrucciones del productor.

40 17 Ensayo de cometas

Después del tratamiento, las células se tripsinizaron y se sumergieron en agarosa de bajo punto de fusión 1 % (Sigma) en PBS y se propagaron a portaobjetos de microscopio recubiertos de antemano con agarosa 1 % (Bio-Rad). Las células se lisaron en la solución de lisis (NaCl 2,5 M, EDTA 100 mM, base Tris 10 mM, NaOH 8 g/l, Triton X-100 1 %, DMSO 10 %) durante 1 hora a temperatura ambiente y después se procesaron en la solución de ejecución (NaOH 300 mM, EDTA 1 mM, pH 13,0) durante 30 minutos, a 25 V y 250 mA. El ADN se equilibró con Tris 0,4 M, pH 8,0, y los portaobjetos se secaron con metanol. Se tomaron imágenes de yoduro de propidio-ADN (Sigma) y las figuras usando un microscopio Axiovert 200M con aumento 40X y un software de adquisición de imágenes Axiovision (Zeiss). Se registraron al menos 300 células por cada portaobjetos.

50 18. Análisis de FACS y tinción de PI y análisis de tinción de PI/Anexina V

Para el fin de determinar el efecto del extracto de la invención en el ciclo celular, se realizó un análisis de FACS.

55 Para tinción con yoduro de propidio (PI), las células se sembraron en placas de 6 pocillos a una densidad de 10<sup>4</sup> células/ml. Tras 24 h de adhesión, las células tumorales se trataron con concentraciones indicadas del extracto de la invención durante diversos intervalos temporales. Las células se recogieron en suspensión y las células adheridas se lavaron en PBS, se fijaron con etanol congelado (70 % v/v) y se almacenaron a -20 °C. Para los análisis, las células se lavaron en PBS y se suspendieron en PBS, PI (25 mg/ml) y RNasa A (200 mg/ml).

60 Para la doble tinción de PI/anexina V, las células tratadas se recogieron y se resuspendieron en tampón de unión (HEPES pH 7,4, CaCl<sub>2</sub> 2,5 mM, NaCl 140 mM). Se incubaron alícuotas de células durante 15 min con anexina V FITC y PI (5 mg/ml) (Invitrogen).

65 Durante todos los análisis de FACS, se analizaron 10<sup>5</sup> acontecimientos para cada muestra. Los análisis de citometría de flujo se realizaron en un citómetro de flujo GuavaEasyCyte 8HT (Millipore).

19. Análisis estadístico

Se usó ensayo de t de Student para evaluar la significación de datos *in vitro*, mientras que la significación de datos de supervivencia en ratones se evaluó usando análisis de Kaplan-Meier y ensayos de rangos logarítmicos. Valores  $p \leq 0,05$  se consideraron estadísticamente significativos.

Trasplante de xenoinjerto

Se inyectaron por vía subcutánea suspensiones de  $1 \times 10^6$  células MSTO211H en PBS 1x/ Matrigel (BD Biosciences) en ratones CD1 macho de 5 semanas (Charles River, Milán). El peso corporal y las señales clínicas de ratones se determinaron cada 3 días. Se calcularon volúmenes tumorales usando la fórmula:  $V = 1/2 \times \text{longitud} \times \text{anchura}^2$  (la longitud y la anchura se midieron con un calibrador manual). Cuando los tumores alcanzaron un volumen promedio de  $50 \text{ mm}^3$ , los ratones se trataron por vía intraperitoneal con pemetrexed (100 mg/kg/3 días) o por vía oral con extracto de *Filipendula vulgaris* (25/50/100  $\mu\text{g/ml/7 d}$ ). Todos los ensayos de tumorigenicidad se realizaron siguiendo las directrices del comité de ética interno.

Transferencia de Western

Las células se lisaron en hielo durante 30 min en tampón de lisis NP40 (Tris-HCl 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, NP-40 1 %, EGTA 1 mM, EDTA 1 mM) complementado con inhibidores de proteasa y fosfatasa (PMSF 5 mM, NaF 3 mM, DTT 1 mM, NaVO4 1 mM).

Se degradaron cantidades iguales de extractos totales de proteína (30  $\mu\text{g}$ ) por medio de electroforesis desnaturante (SDS-PAGE) en gel de poliacrilamida 8 % y se transfirieron durante 2 horas en membrana de nitrocelulosa pura. Las membranas se bloquearon con leche al 5 %-Tween 20 0,05 % durante 1 hora y se incubaron durante una noche con los anticuerpos primarios específicos. Se usaron los siguientes anticuerpos primarios: anti-beta actina (A-2228, SIGMA), anti-caspasa-3 (31A1067, Alexis); anti-caspasa-7 (n.º 9492, Cell Signaling); anti-PARP (n.º 9542S, Cell Signaling). Los anticuerpos secundarios usados para detección de quimioluminiscencia fueron conjugados con peroxidasa de rábano (Santa Cruz) y se usaron reactivos ECL (Amersham, GE Healthcare, Piscataway, NJ, Estados Unidos) para la quimioluminiscencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Aggarwal B. B. et al. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1091; 151-69: 2006
- Johnston PA y Grandis RG, MolInterv; 11 (1); 18-26:2011
- Niu G. et al. Mol Cancer Res, 6 (7); 1099-105: 2008
- Turkson J. Jove R. "STAT proteins: novel molecular targets for cancer drug discovery" Oncogene. 27 de diciembre de 2000;19(56):6613-26
- Yu.H. et al "STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3" Nature Reviews Cancer 9, 798-809 (noviembre de 2009)

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un extracto de *Filipendula vulgaris* para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3.
2. El extracto de *Filipendula vulgaris* según la reivindicación 1 en el que dicho extracto es un extracto seco o liofilizado o fluido de inflorescencias foliares de *Filipendula vulgaris*.
- 10 3. El extracto de *Filipendula vulgaris* según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3 en asociación con uno o más compuestos antitumorales y/o antiinflamatorios, en el que dicha asociación se lleva a cabo por administración conjunta o secuencial de dicho extracto con dichos uno o más compuestos antitumorales y/o antiinflamatorios.
- 15 4. El extracto de *Filipendula vulgaris* según la reivindicación 3 en el que dichos uno o más compuestos antitumorales se seleccionan en el grupo que comprende: cisplatino, doxorubicina, pemetrexed, metotrexato, vinorelbina, gemcitabina y taxol.
- 20 5. El extracto de *Filipendula vulgaris* según una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 4 en el que dicha afección patológica es una afección patológica tumoral seleccionada en el grupo que comprende: cáncer de próstata, mieloma múltiple, leucemia, linfoma, melanoma, carcinoma de ovario, carcinoma de células renales, adenocarcinoma pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de cerebro, eritroleucemia, carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de colon, mesotelioma o en el que la afección es una inflamación provocada por infecciones víricas tales como infección por *H pylori*, infección con el virus de la hepatitis B, infecciones por VPH (virus del papiloma humano), infecciones por el virus de Epstein-Barr.
- 25 6. El extracto de *Filipendula vulgaris* según la reivindicación 5 en el que dicho tumor cerebral es glioma, meningioma cerebral, meduloblastoma, en el que dicho linfoma es síndrome de Sezary, linfoma de Burkitt asociado a VEB, linfoma dependiente de VHS de Samiri, linfoma cutáneo relacionado con linfocitos T; en el que dicha leucemia es leucemia dependiente de HTLV-I, leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia megacariocítica, leucemia linfocítica granular grande (LGG).
- 30 7. El extracto de *Filipendula vulgaris* según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicha afección patológica es un tumor resistente al tratamiento con agentes quimioterapéuticos que no inhiben STAT3.
- 35 8. Una composición que comprende como principio activo un extracto de *Filipendula vulgaris* como se define en las reivindicaciones 1 o 2 y un vehículo y/o diluyente y/o excipiente para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3 que comprende además opcionalmente, como principio activo, uno o más compuestos antitumorales y/o antiinflamatorios.
- 40 9. La composición para uso según la reivindicación 8 en la que dichos uno o más compuestos antitumorales se seleccionan en el grupo que comprende: cisplatino, doxorubicina, pemetrexed, metotrexato, vinorelbina, gemcitabina y taxol.
- 45 10. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones de 8 o 9 en la que dicha afección patológica es una afección patológica tumoral seleccionada en el grupo que comprende: cáncer de próstata, mieloma múltiple, leucemia, linfoma, melanoma, carcinoma de ovario, carcinoma de células renales, adenocarcinoma pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de cerebro, eritroleucemia, carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de colon, mesotelioma o en la que la afección es una inflamación provocada por infecciones víricas tales como infección por *H pylori*, infección con el virus de la hepatitis B, infecciones por VPH (virus del papiloma humano), infecciones por el virus de Epstein-Barr.
- 50 11. La composición para uso según la reivindicación 10 en la que dicho tumor cerebral es glioma, meningioma cerebral, meduloblastoma, en la que dicho linfoma es síndrome de Sezary, linfoma de Burkitt asociado a VEB, linfoma dependiente de VHS de Samiri, linfoma cutáneo relacionado con linfocitos T; en la que dicha leucemia es leucemia dependiente de HTLV-I, leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia megacariocítica, leucemia linfocítica granular grande (LGG).
- 55 12. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en la que dicha afección patológica es un tumor resistente al tratamiento con agentes quimioterapéuticos que no inhiben STAT3.
- 60 13. Un kit para la administración conjunta o secuencial de extracto de *Filipendula vulgaris* y uno o más compuestos que tengan actividad antitumoral y/o uno o más compuestos que tengan actividad antiinflamatoria para su uso en la prevención y/o en el tratamiento de una afección patológica inflamatoria y/o pretumoral y/o tumoral caracterizada por
- 65

una activación constitutiva o anómala del factor de transcripción STAT3, que comprende una o más alícuotas de un extracto de *Filipendula vulgaris* como se define en las reivindicaciones 1 o 2 y una o más alícuotas de uno o más compuestos antitumorales y/o una o más alícuotas de uno o más compuestos antiinflamatorios.

- 5 14. El kit de acuerdo con la reivindicación 13, en el que dichos uno o más compuestos antitumorales se seleccionan en el grupo que comprende cisplatino, doxorubicina, pemetrexed, metotrexato, vinorelbina, gemcitabina y taxol.
- 10 15. El kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 17 o 18, en el que dicha afección patológica es una afección patológica tumoral seleccionada en el grupo que comprende: cáncer de próstata, mieloma múltiple, leucemia, linfoma, melanoma, carcinoma de ovario, carcinoma de células renales, adenocarcinoma pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de cerebro, eritroleucemia, carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de colon, mesotelioma.



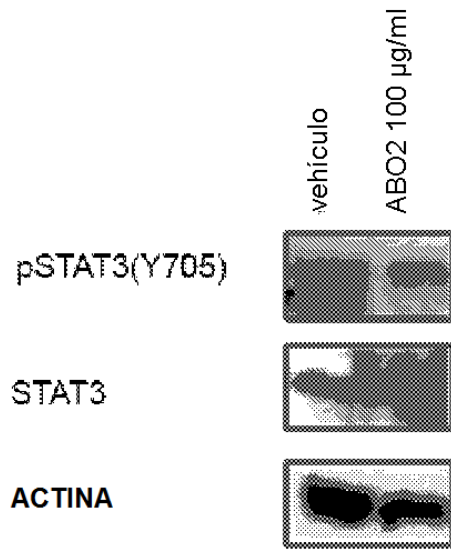


Figura 1a

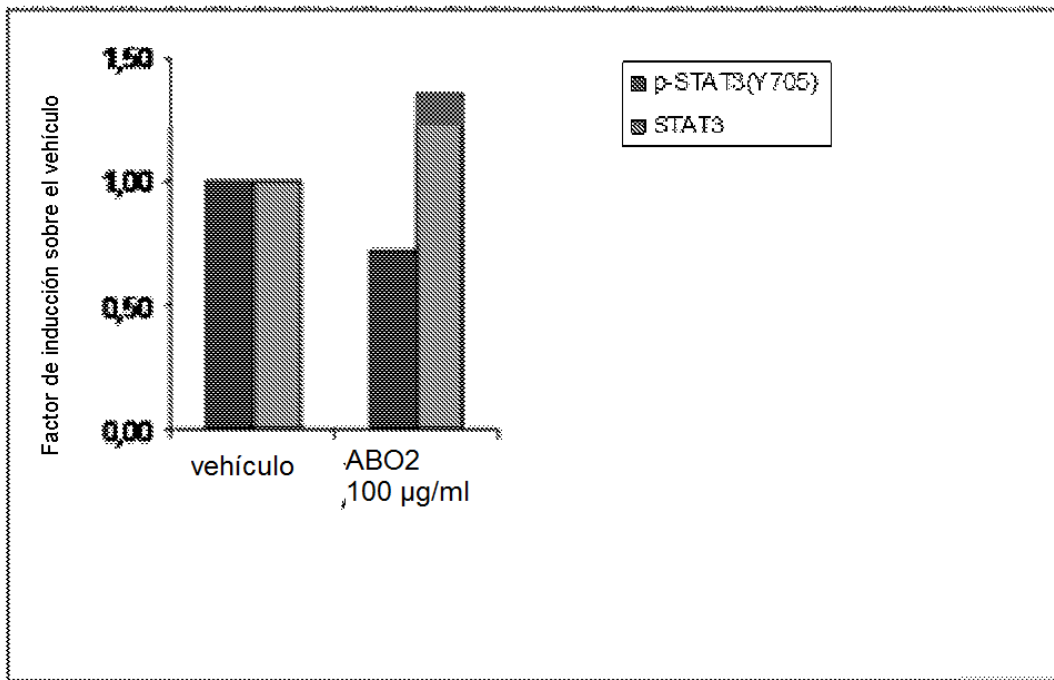


Figura 1b

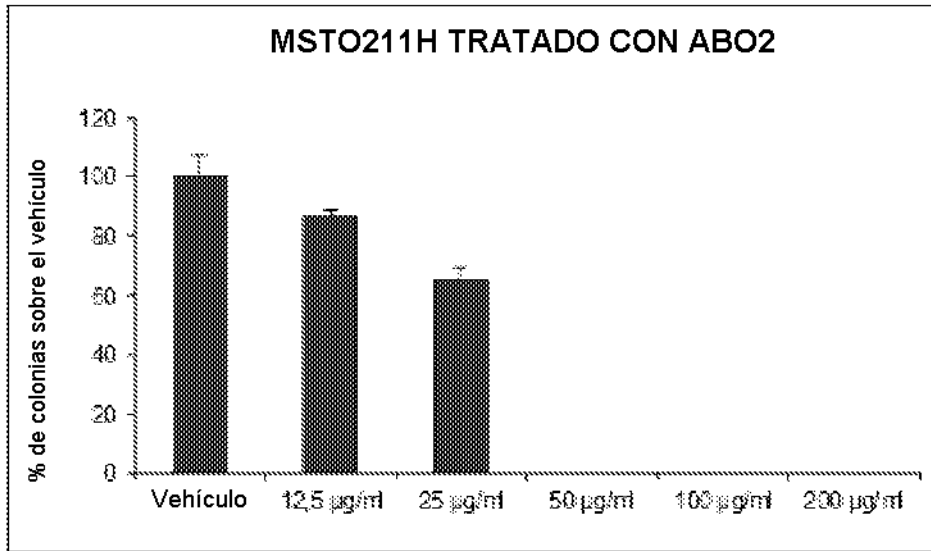


Figura 2a

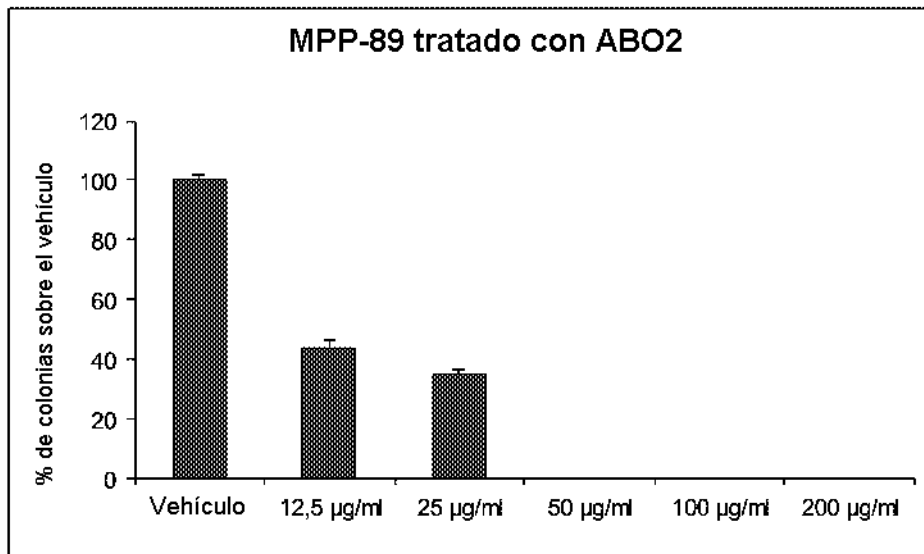


Figura 2b

**MDA-MB-231 con ABO2**

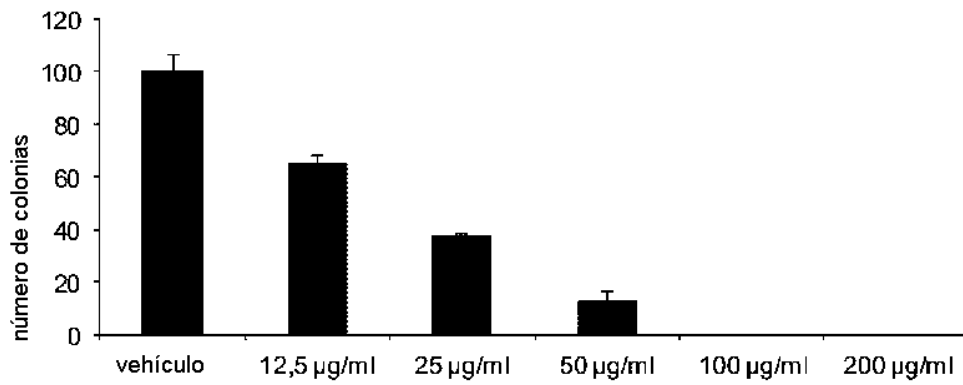


Figura 3a

**DU145 ABO2**

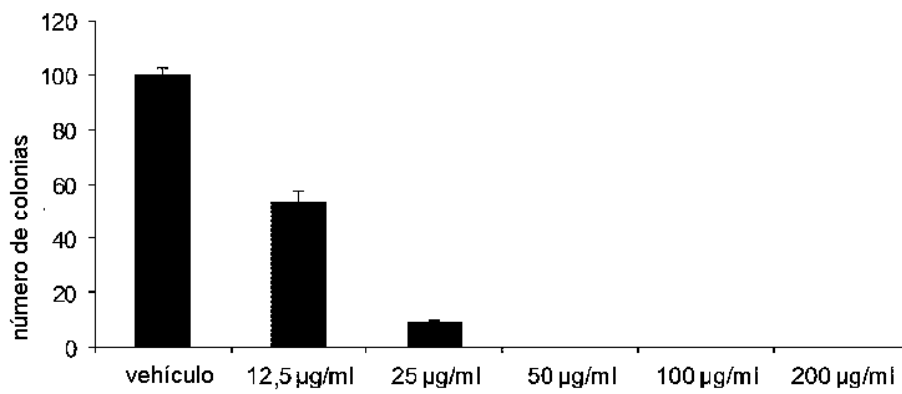


Figura 3b

**HCT116 ABO2**

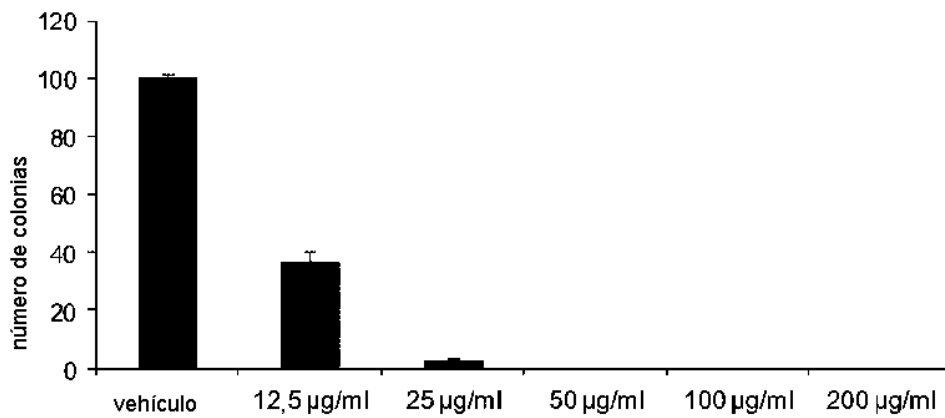


Figura 3c

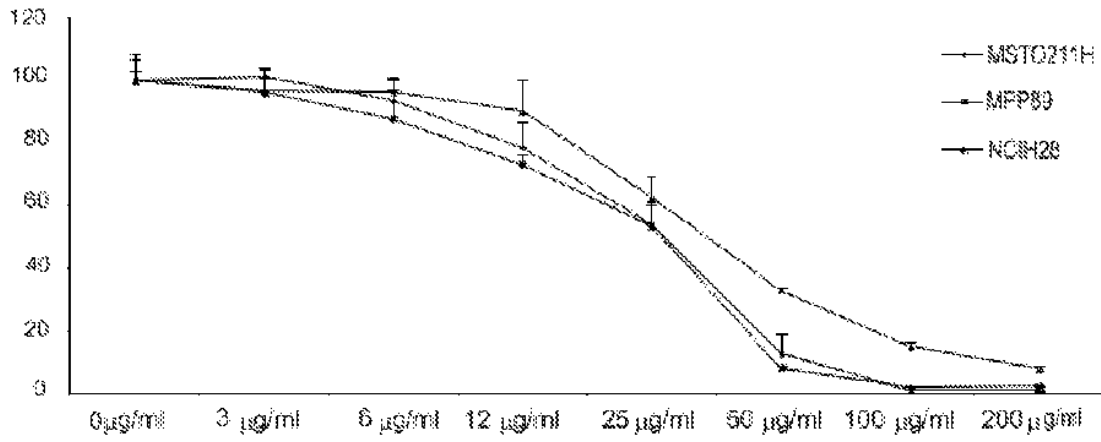


Figura 4

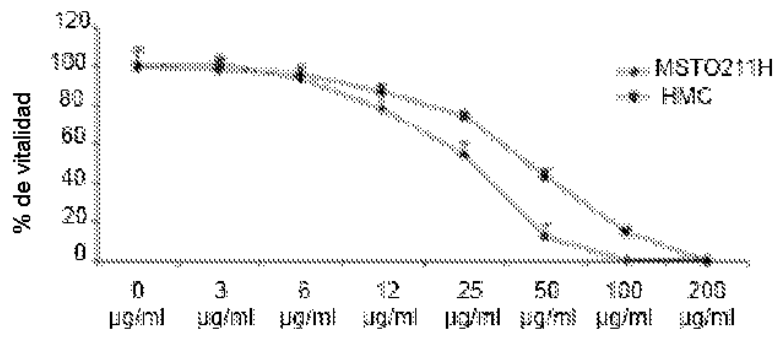


Figura 5a

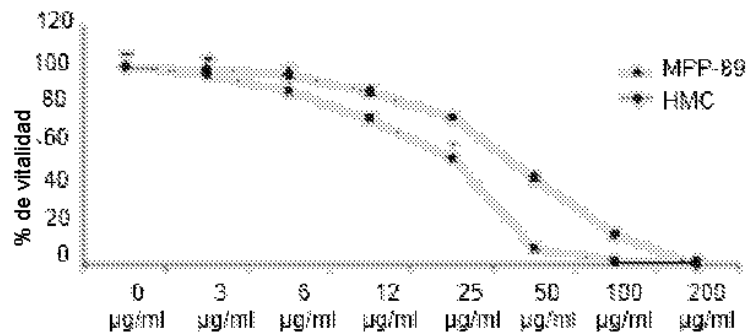


Figura 5b

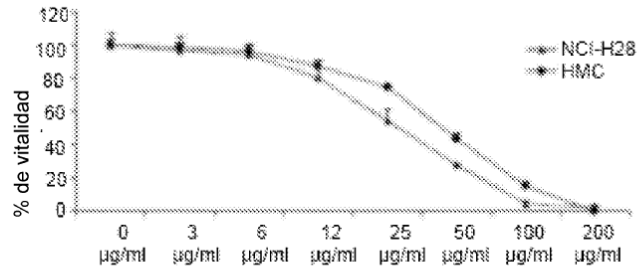


Figura 5c

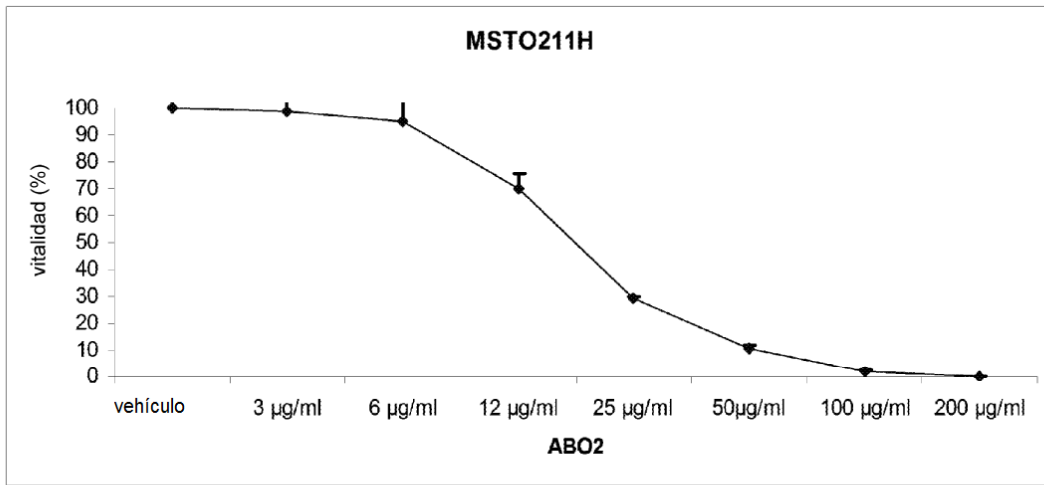


Figura 6a

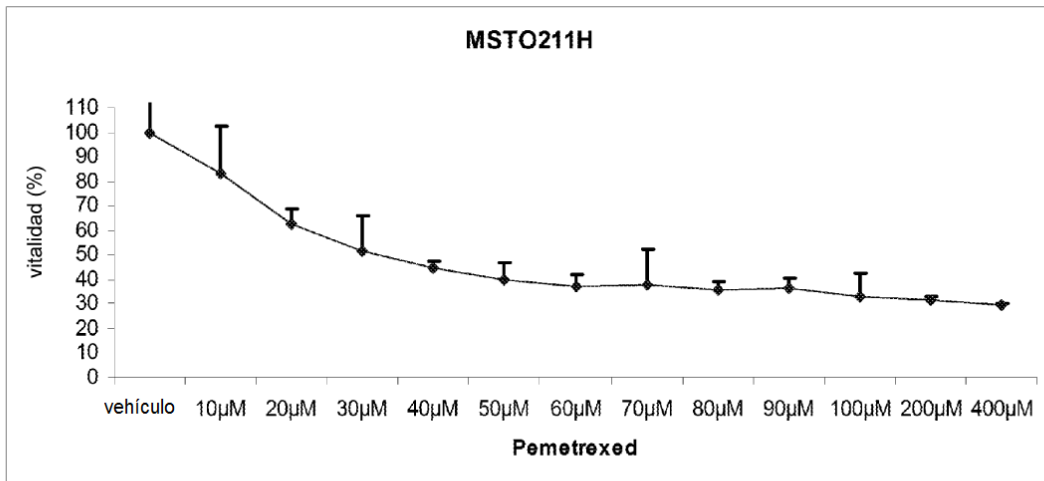


Figura 6b

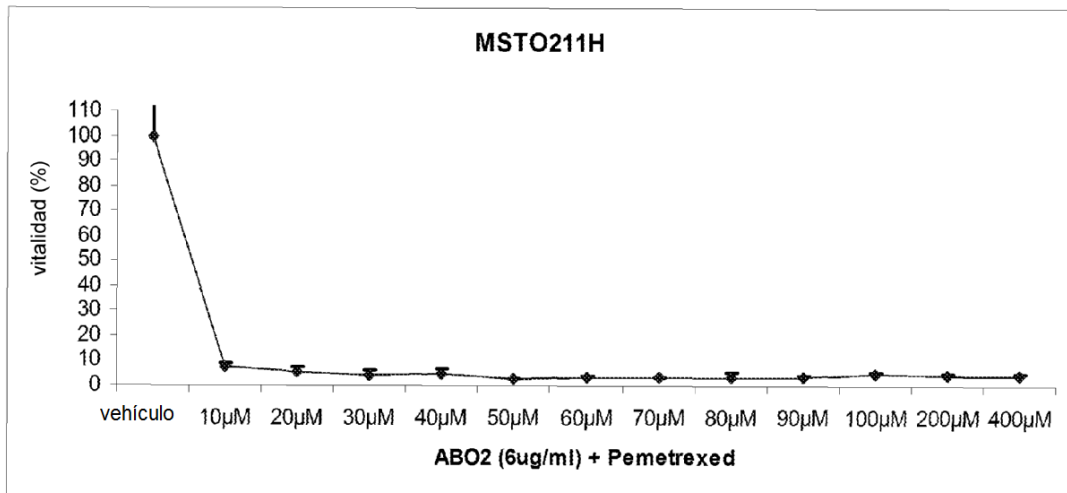


Figura 6c

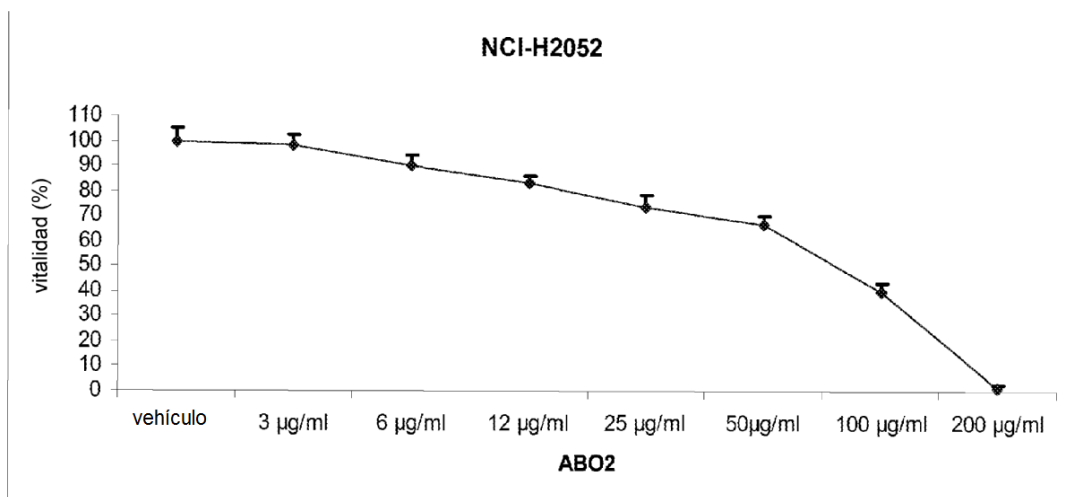


Figura 7a

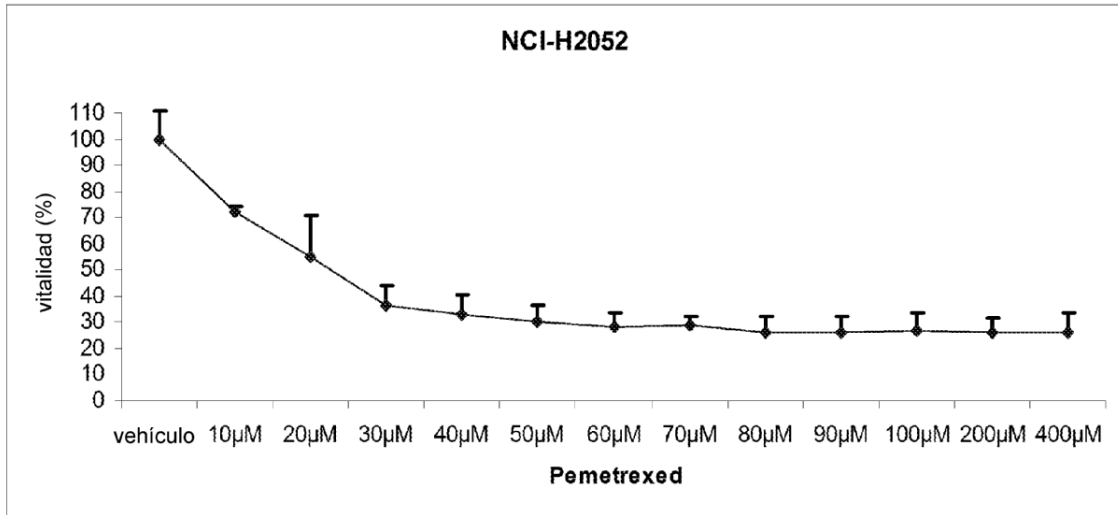


Figura 7b

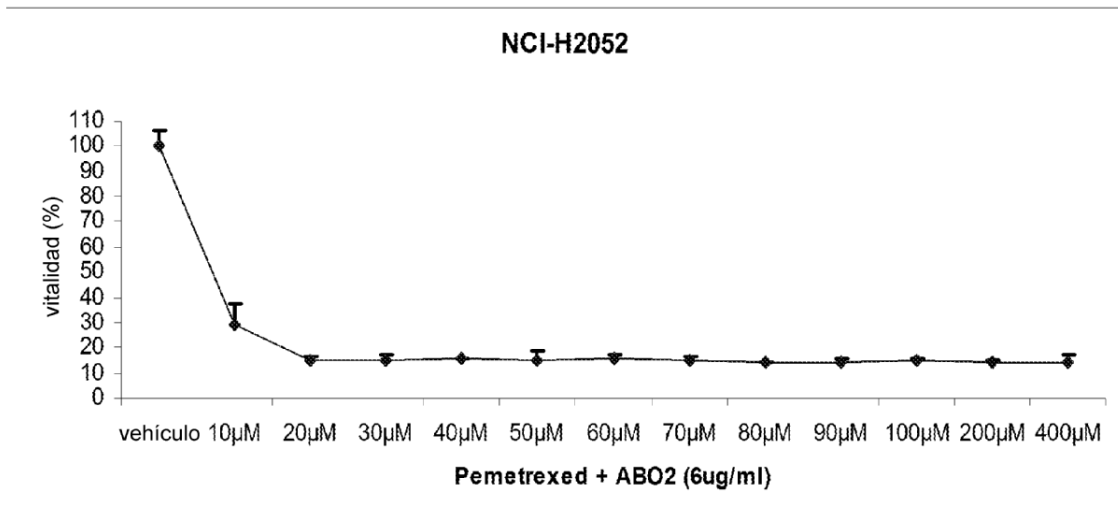


Figura 7c

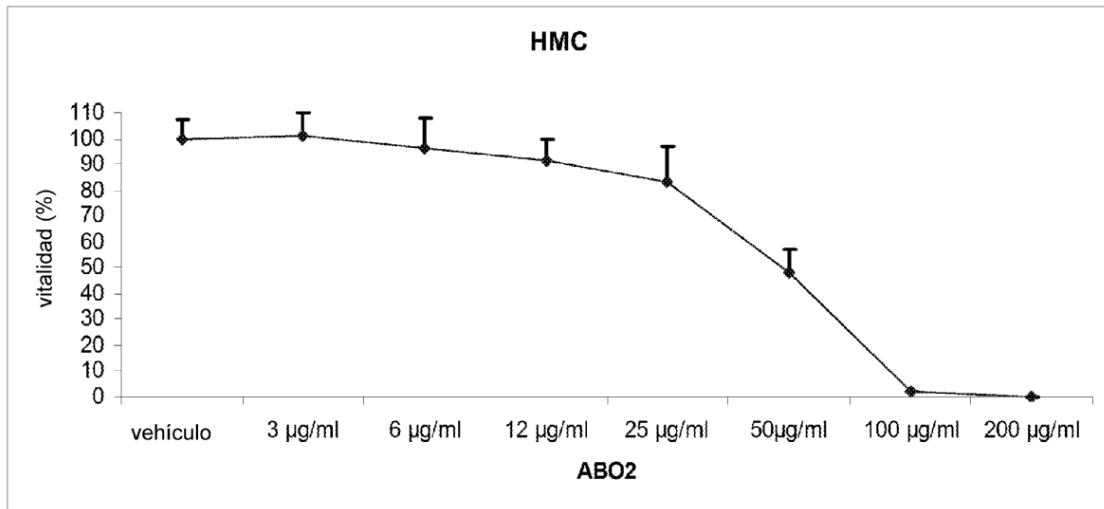


Figura 8a

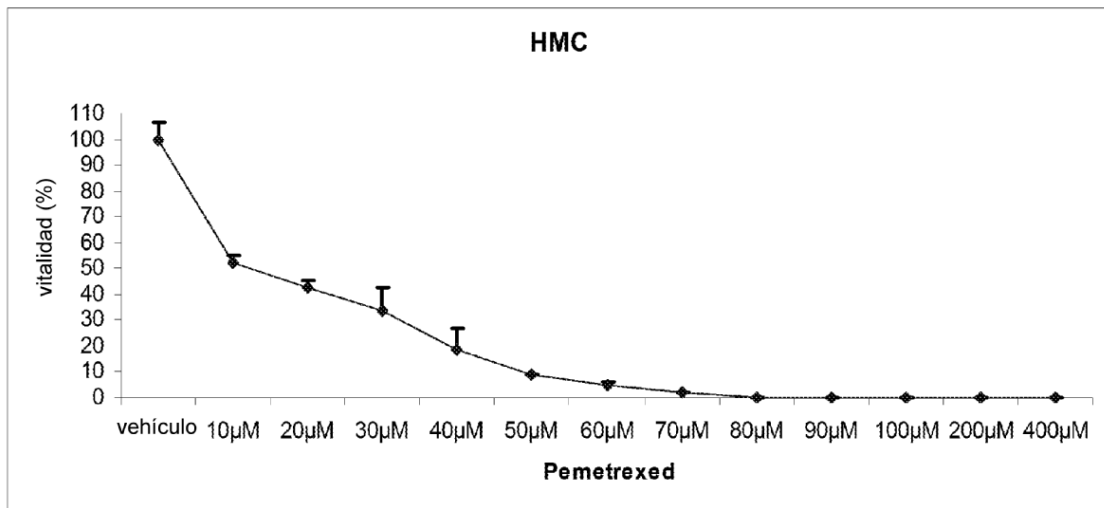


Figura 8b



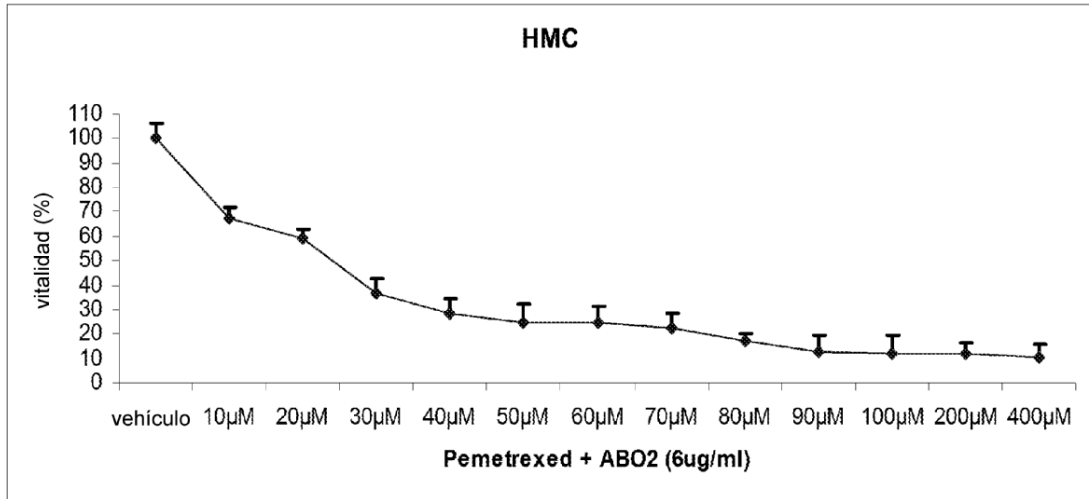


Figura 8c

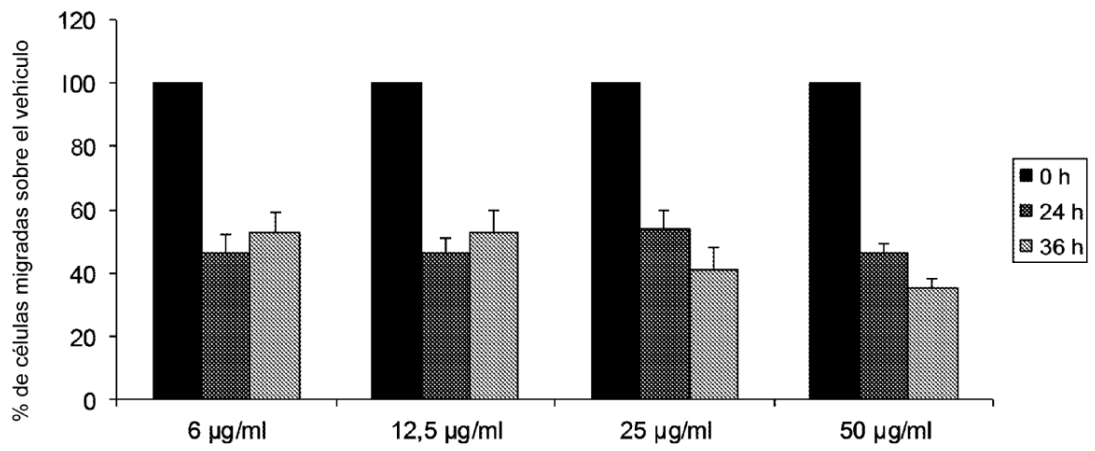


Figura 9

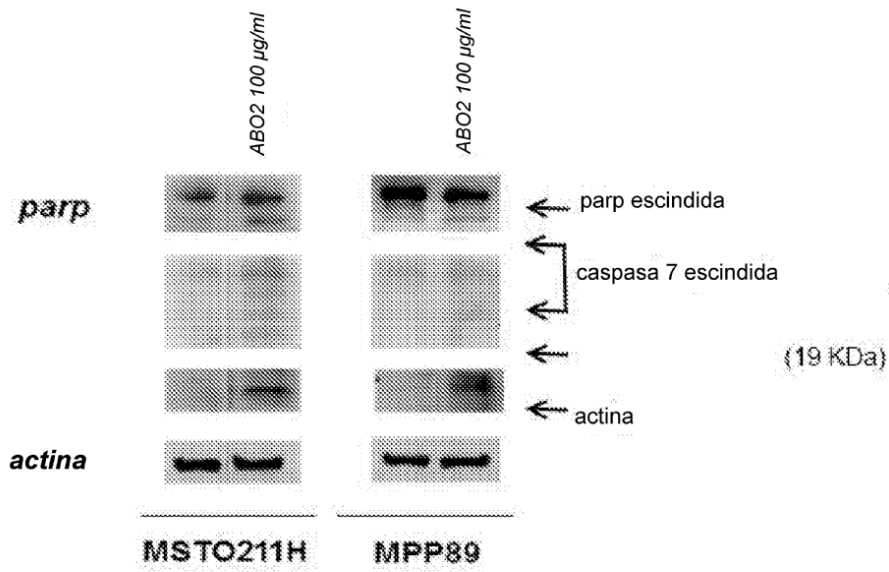


Figura 10

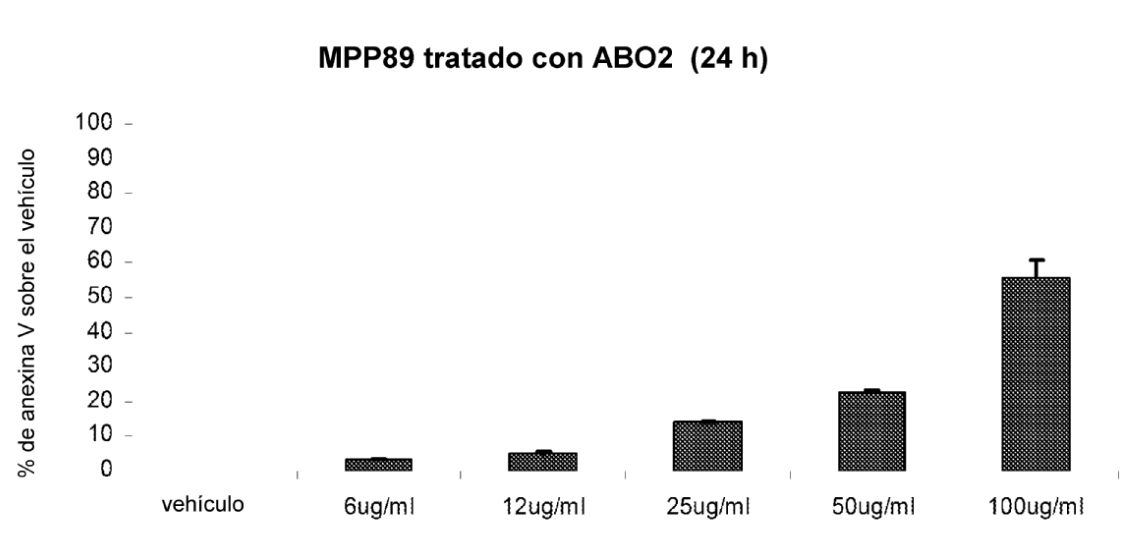


Figura 11

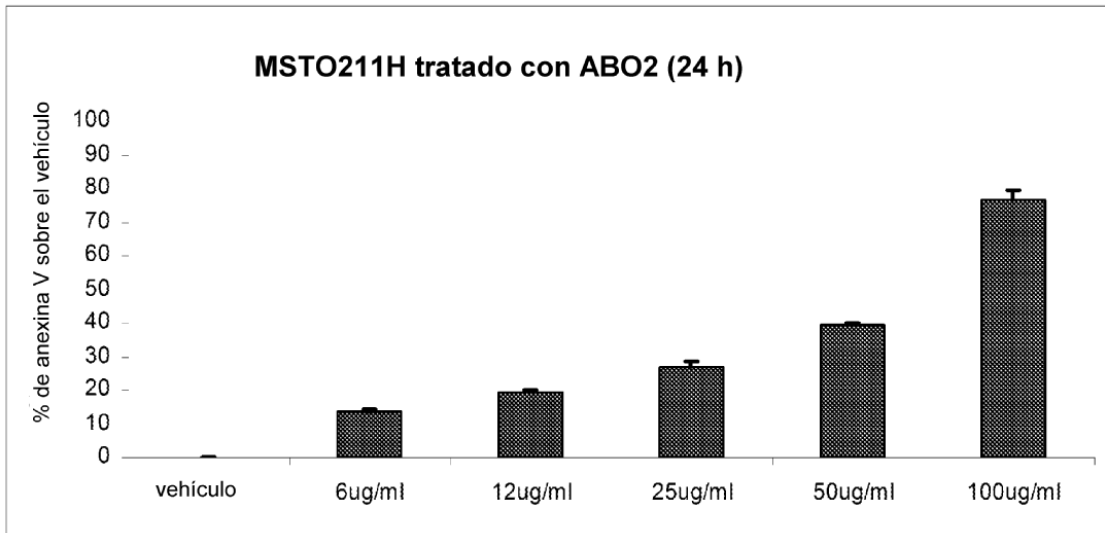


Figura 12

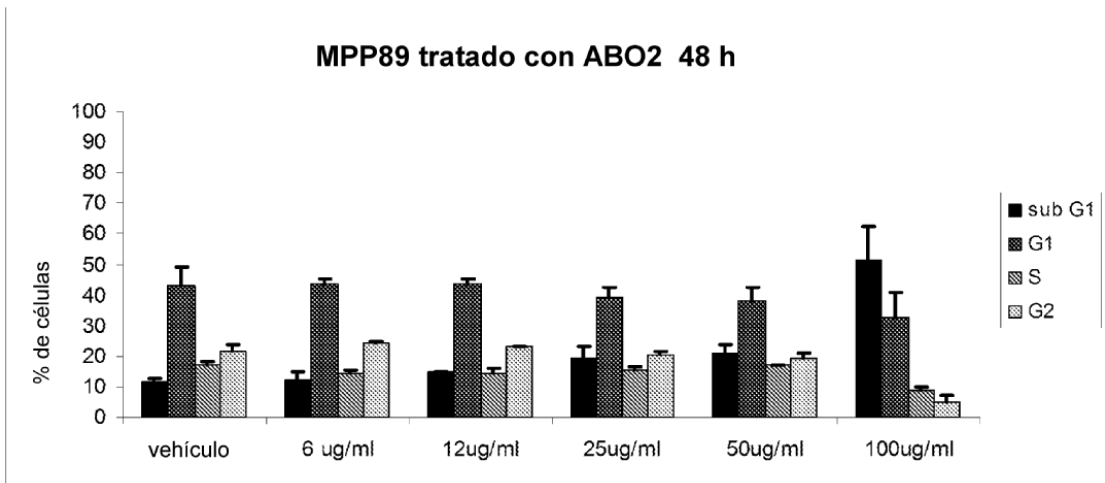


Figura 13a

**MPP89 tratado con ABO2 72 h**

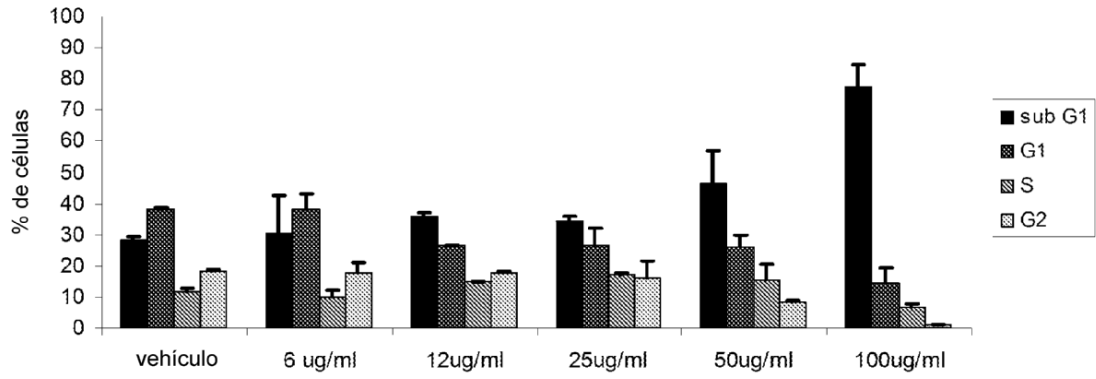


Figura 13b

**MSTO211H tratado con ABO2 48 h**

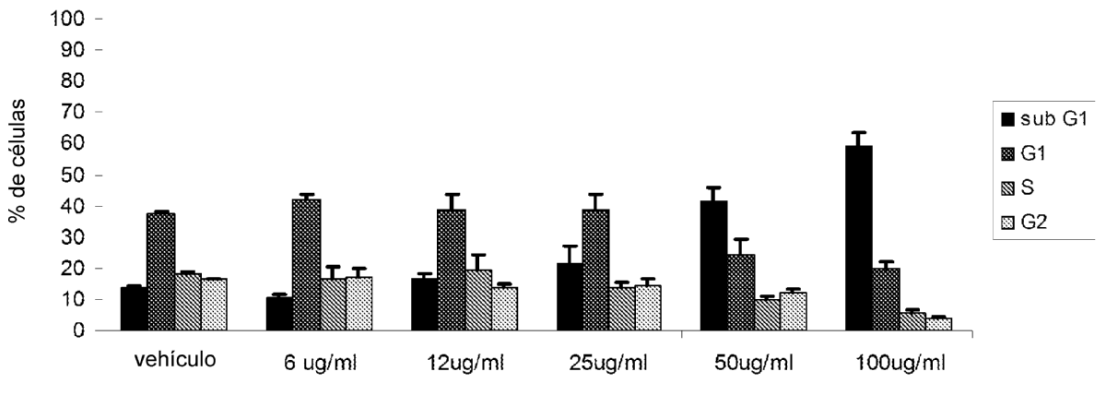


Figura 14a

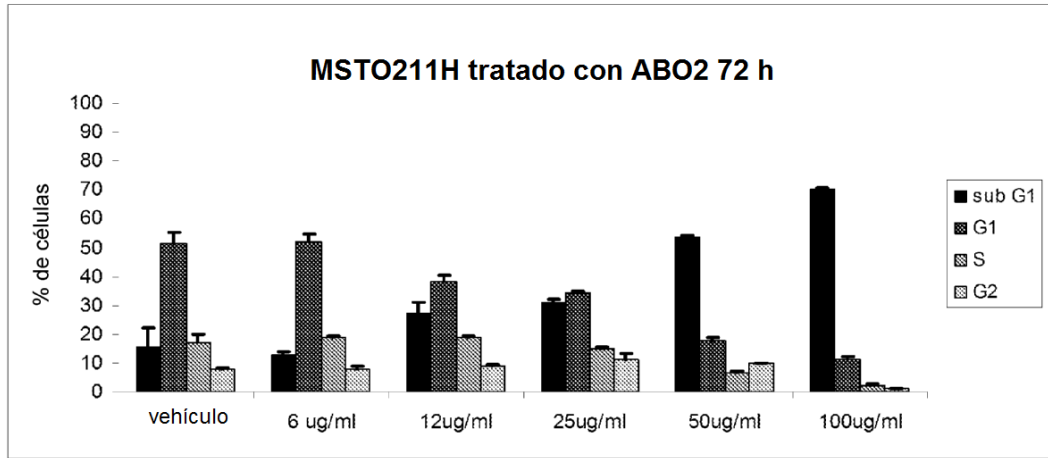


Figura 14b

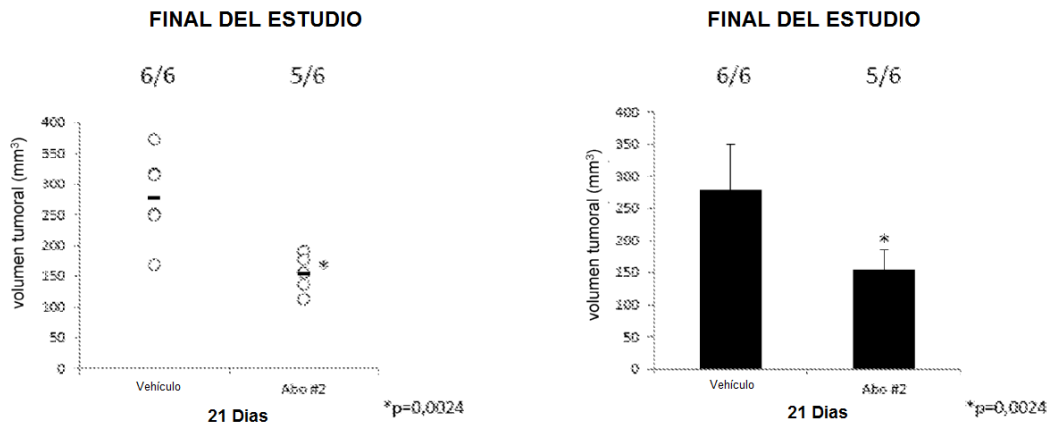


Figura 15

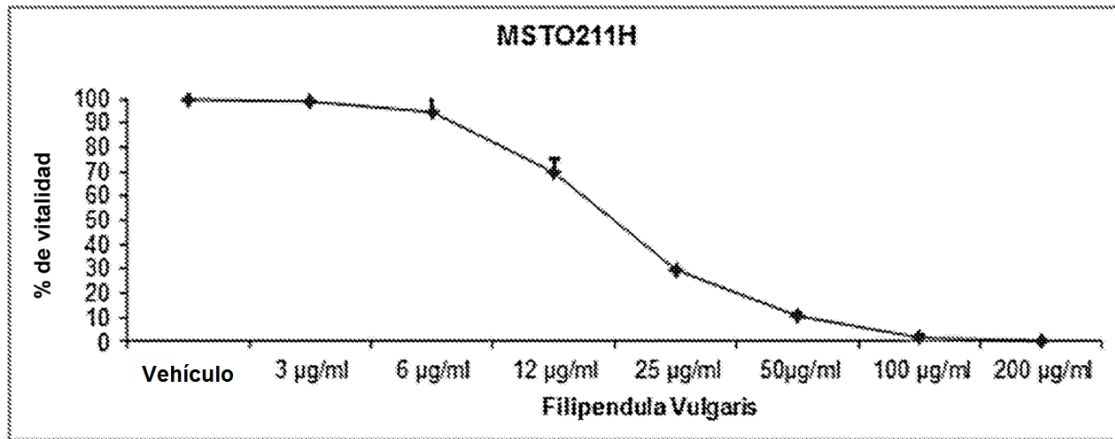


Figura 16a

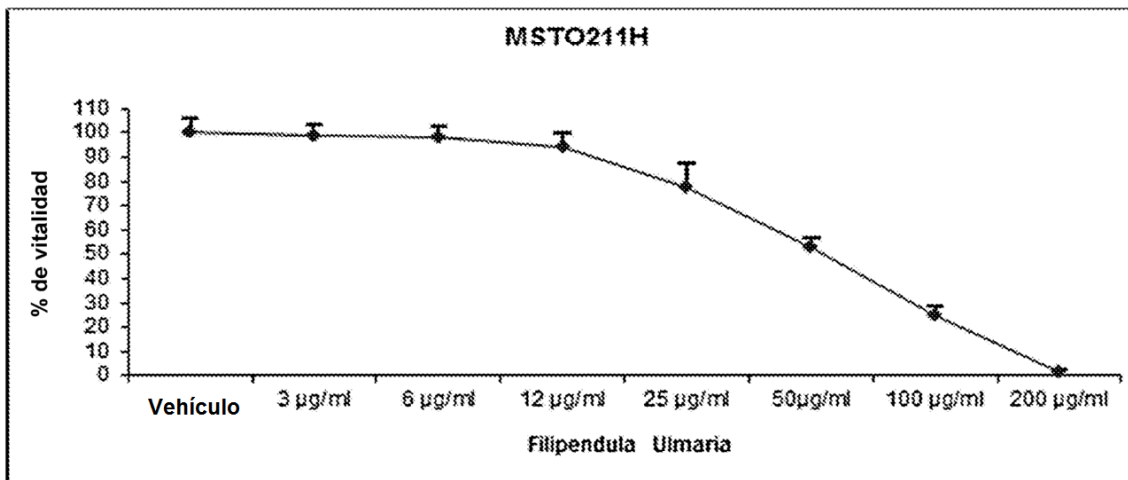
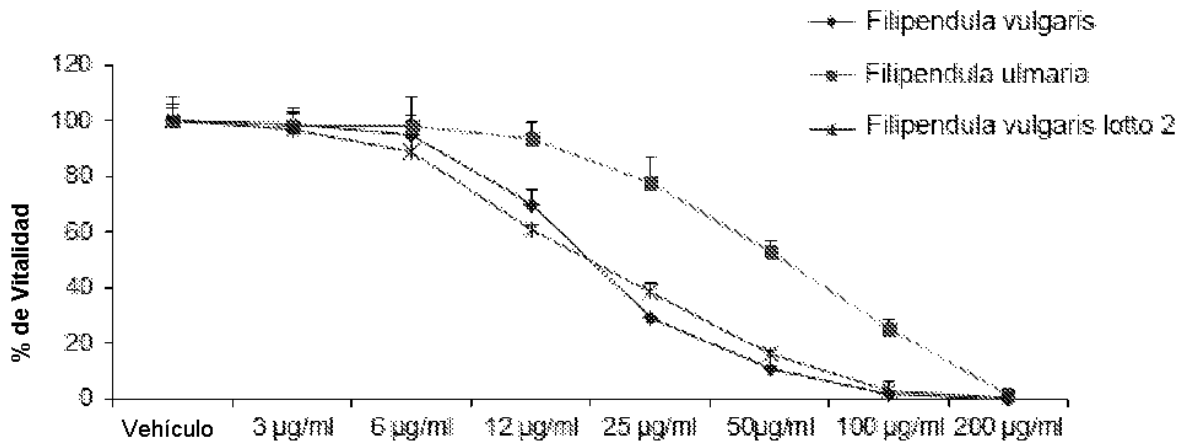


Figura 16b



diferentes extracciones de ABO2

Figura 17

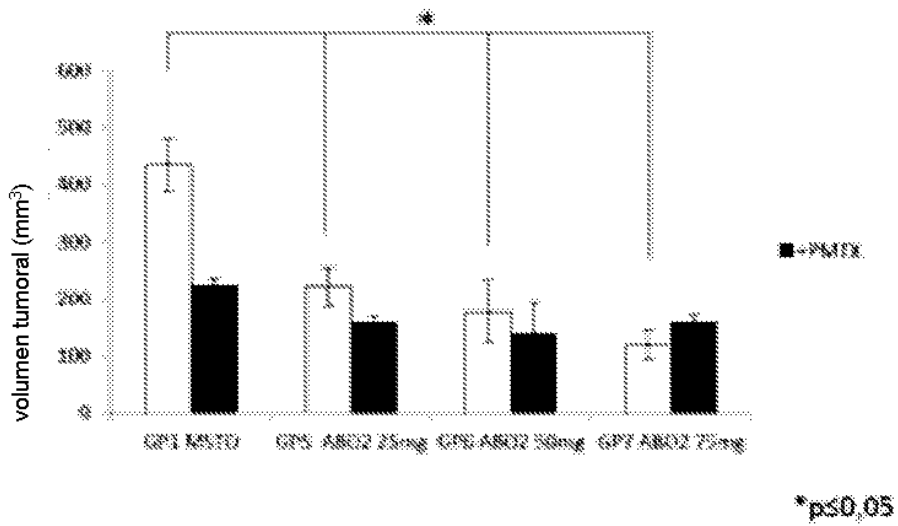


Figura 18

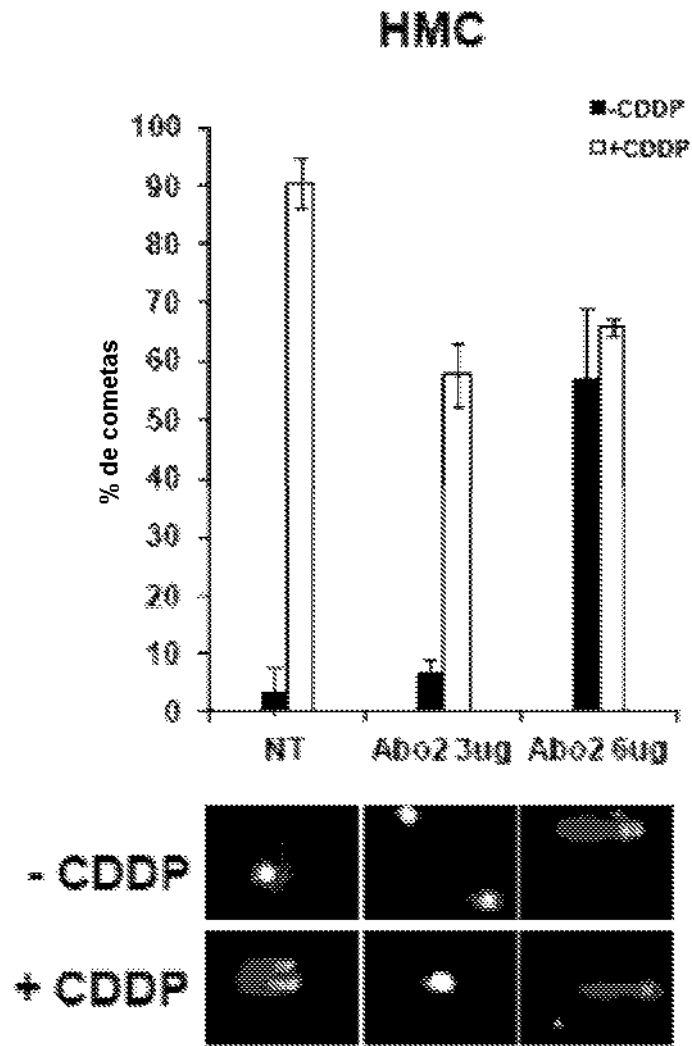


Figura 19a



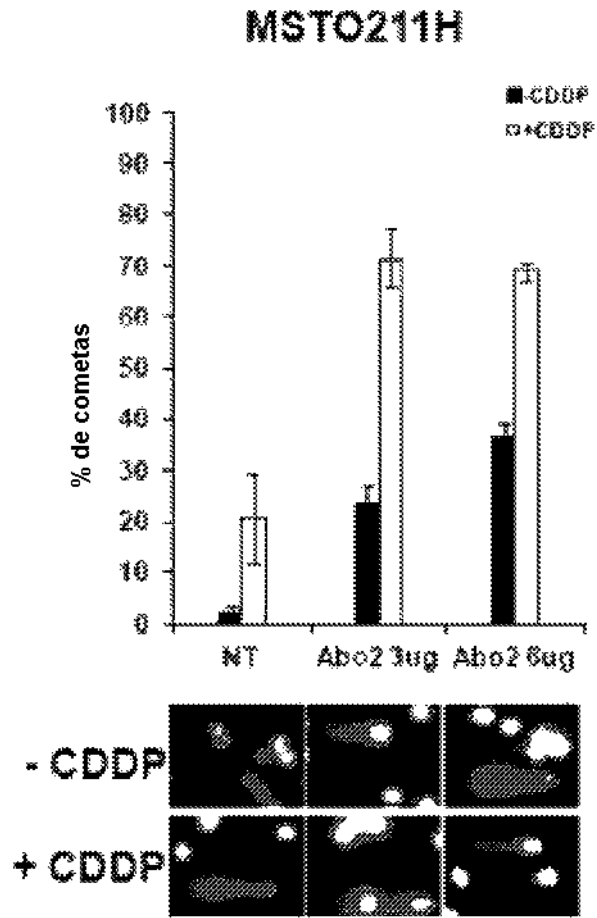


Figura 19b