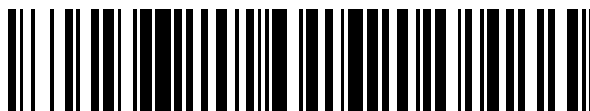


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 692 152**

51 Int. Cl.:

G01N 33/50

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.06.2011** **PCT/US2011/040430**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.12.2011** **WO11159750**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2011** **E 11726315 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.08.2018** **EP 2583098**

54 Título: **Biomarcadores para el tratamiento de la psoriasis**

30 Prioridad:

21.03.2011 US 201161454916 P
15.06.2010 US 355116 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
30.11.2018

73 Titular/es:

CELGENE CORPORATION (100.0%)
86 Morris Avenue
Summit, NJ 07901, US

72 Inventor/es:

SCHAFER, PETER, H.;
LIN, YONG y
SUTHERLAND, DONNA

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 692 152 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

Biomarcadores para el tratamiento de la psoriasis

1. Campo

- 5 En este documento se proporciona la supervisión de biomarcadores específicos en muestras obtenidas a partir de biopsias de la piel antes y durante una terapia para la psoriasis. También se proporciona en el presente documento una supervisión de la expresión de uno o varios genes o proteínas específicos antes y durante la terapia.

2. Antecedentes

- 10 La psoriasis es un trastorno inflamatorio autoinmune crónico de la piel, caracterizada por una hiperproliferación epidérmica de los queratinocitos y las células endoteliales y una acumulación de células inflamatorias (por ejemplo, linfocitos T activados). Griffiths CE, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2003, 17 Supl 2: 1-5; Creamer, JD, et al., *Clin. Exp. Dermatol.* 1995, 20(1):6-9. Además, una evidencia reciente sugiere la participación de los linfocitos asesinos naturales (NK) y NK T en la patogénesis de la psoriasis, ya que estas células producen interferón-gamma (IFN- γ), el cual se ha mostrado que desempeña un papel en la proliferación de los queratinocitos en la psoriasis. Bos JD, et al., *Br. J. Dermatol.* 2005, 152(6):1098-107.

- 15 Clínicamente los principales síntomas de la psoriasis son parches escamosos de color gris o plateado sobre la piel que son de color rojo e inflamado por debajo. Un aspecto fundamental de la ruta patogénica propuesta son las citoquinas, quimiocinas y otros mediadores inflamatorios producidos por queratinocitos activados, células dendríticas, neutrófilos y linfocitos NK T que se cree que inducen tanto la proliferación de queratinocitos como la migración de linfocitos. Creamer, JD, et al., *Clin. Exp. Dermatol.* 1995, 20(1):6-9; Bos JD, et al., *Br. J. Dermatol.* 2005, 152(6):1098-107; Bowcock et al., *Nat. Rev. Immunol.* 2005, 5(9):699-71. Los mediadores proinflamatorios que se muestran elevados en las lesiones de la piel con psoriasis incluyen el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), IL-8, IL-12, IFN- γ y sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS). LaDuca JR, et al., *Dermatol. Clin.* 2001, 19(4): 617-35; Duan H, et al., *J. Dermatol. Sci.* 2001, 26 (2): 119-24; Gottlieb et al., *J. Immunol.* 2005, 175(4):2721-9. Además, se observaron bajos niveles de expresión de la citocina antiinflamatoria IL-10 en lesiones de psoriasis. Asadullah K, et al., *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy.* 2004, 3(2):185-92.

- 25 Puesto que la patogénesis de la psoriasis se describe que está implicada en la regulación positiva de al menos TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-8 e IL-12, además de reducciones en IL-10, se cree que los inhibidores de PDE4 pueden proporcionar beneficios terapéuticos en el tratamiento de la psoriasis. Existe una necesidad de biomarcadores fiables para la psoriasis que puedan proporcionar una evaluación precisa en relación con el pronóstico y la eficacia de un tratamiento particular.

- 30 El documento US 2008/234359 describe formas sólidas que comprenden (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-4-acetilaminoisindolin-1,3-diona y métodos para emplear la misma para tratar o prevenir enfermedades que se mejoran con la inhibición de PDE4. También se describen ciertos biomarcadores que incluyen CD11c, ICAM-1, HLA-DR, iNOS y K16.

- 35 M.A. Lowes, Proceedings of the national academy of sciences, vol. 102, nº 52, 27 Diciembre 2005, páginas 19057-19062, describen que las células CD11c+ son un tipo celular importante en las lesiones de la piel con psoriasis, analizando la expresión de CD11c e iNOS en diferentes momentos temporales del tratamiento de la psoriasis.

Malaviya R. et al., Journal of the American academy of dermatology, vol. 55, nº 4, 1 Octubre 2006, páginas 590-597, describen la eficacia de Etanercept en el tratamiento de la psoriasis, incluyendo CD11c como un marcador celular.

- 40 De Meijere A., Angewandte Chemie, vol. 18, nº 11, Noviembre 1979, páginas 809-826, es un fragmento del libro de texto que describe las propiedades de unión del ciclopropano y sus consecuencias químicas.

Anand B S et al., Current eye research, IRL Press, Oxford GB, vol. 26, nº 3-04, 1 de Marzo 2003, páginas 151-163, se refiere a un análisis de profármacos de dipéptidos en el tratamiento antivirico.

- 45 El documento US 2009/239926 describe métodos para tratar la psoriasis y la artritis psoriática que implican la administración de ciclopropil-N-{2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-3-oxoisindolin-4-il}carboxamida, así como composiciones farmacéuticas y formas de dosis unitarias aisladas.

3. Compendio

En este documento se describen biomarcadores para predecir o realizar un seguimiento de la eficacia de un tratamiento para la psoriasis.

- 50 En una realización, se proporciona en este documento un método para predecir o realizar un seguimiento de la eficacia de un tratamiento de la psoriasis mediante la medición del nivel de uno o varios biomarcadores específicos en células obtenidas a partir de pacientes, antes o durante el tratamiento. En una realización, las células se obtienen mediante biopsias de la piel. En otra realización, los biomarcadores incluyen CD11c, CD3, CD56, Langerina y/o

Foxp3. En una realización, el tratamiento es la administración de un modulador de PDE4 proporcionado en otra parte en el presente documento.

En otra realización, se proporciona en este documento el uso de ARNm específicos como biomarcadores para predecir o determinar la eficacia y el progreso de un tratamiento para la psoriasis. En una realización, los niveles de ARNm de queratina 16, IL-12/IL-23 p40, IL-23 p19, IL-17A, IL-22, DEFB4, IL-8, MX-1, IL-10, IFN- γ y/o CXCL9 se pueden utilizar para predecir si un tratamiento es probable que tenga éxito en el tratamiento de la psoriasis. Además, la expresión de esos genes se puede utilizar para realizar un seguimiento de la eficacia/progreso del tratamiento una vez que comienza el tratamiento. En una realización, el tratamiento es la administración de un modulador de PDE4 proporcionado en otra parte en el presente documento.

En otra realización adicional, se proporciona un método para el seguimiento del cumplimiento del paciente de un protocolo de tratamiento con fármacos. El método comprende medir el nivel de expresión de al menos un biomarcador proporcionado en este documento en una muestra del paciente y determinar si el nivel de expresión aumenta o disminuye en la muestra del paciente en comparación con el nivel de expresión en una muestra sin tratar de control, en donde una expresión aumentada o disminuida indica el cumplimiento del paciente del protocolo de tratamiento con fármacos.

También se describe un kit útil para predecir la probabilidad de un tratamiento eficaz de la psoriasis. El kit comprende un soporte sólido, ácidos nucleicos en contacto con el soporte, en donde los ácidos nucleicos son complementarios a al menos 20, 50, 100, 200, 350 o más bases de un biomarcador de ARNm proporcionado en este documento, y un medio para detectar la expresión del ARNm en una muestra biológica.

Un kit de este tipo puede emplear, por ejemplo, una tira reactiva, una membrana, un chip, un disco, una tira de prueba, un filtro, una microesfera, un portaobjetos, una placa de múltiples pocillos o una fibra óptica. El soporte sólido del kit puede ser, por ejemplo, un plástico, silicio, un metal, una resina, vidrio, una membrana, una partícula, un precipitado, un gel, un polímero, una lámina, una esfera, un polisacárido, un capilar, una película, una placa o un portaobjetos. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, un cultivo celular, una línea celular, un tejido, un tejido oral, tejido gastrointestinal, un órgano, un orgánulo, un fluido biológico, una muestra de sangre, una muestra de orina o una muestra de piel. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, una biopsia de la piel.

4. Descripción detallada

Los métodos proporcionados en este documento se basan, en parte, en el descubrimiento de que la presencia y un nivel de ciertas moléculas o ARNm en muestras de células, se pueden utilizar como biomarcadores para indicar la eficacia o el progreso de un tratamiento para la psoriasis. En particular, estos biomarcadores se pueden usar para predecir, evaluar y rastrear la eficacia del tratamiento del paciente o para realizar un seguimiento del cumplimiento del paciente con el régimen de tratamiento.

4.1 Breve descripción de las Figuras

La FIG. 1 ilustra un cambio en las células epidérmicas (células dendríticas CD11+; linfocitos T CD3+; células NK CD56+; y células de Langerhans) 4 semanas y 12 semanas después de la administración de 20 mg de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida dos veces al día (b.i.d.).

La FIG. 2 ilustra un cambio en las células epidérmicas (células dendríticas CD11+; linfocitos T CD3+; células NK CD56+; y células de Langerhans) 12 semanas después de la administración de 20 mg de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida dos veces al día (b.i.d.) en respondedores y no respondedores.

La FIG. 3 ilustra un cambio en las células dérmicas (células dendríticas CD11+; linfocitos T CD3+; células NK CD56+; y células de Langerhans) 4 semanas y 12 semanas después de la administración de 20 mg de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida dos veces al día (b.i.d.).

La FIG. 4 ilustra un cambio en las células dérmicas (células dendríticas CD11+; linfocitos T CD3+; células NK CD56+; y células de Langerhans) 12 semanas después de la administración de 20 mg de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida dos veces al día (b.i.d.) en respondedores y no respondedores.

La FIG. 5 ilustra un cambio en la expresión génica de productos génicos de expresión proinflamatorios, asociados con la patogénesis de la psoriasis (IL-12/23 p40; iNOS; IL-22; IL-8; DEFB4; MX1; queratina 16; IL-17A; IL-23 p19; IL-10; IFN γ ; MIG; TNF α ; e IL-2) 4 semanas y 12 semanas después de la administración de 20 mg de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida dos veces al día (b.i.d.).

La FIG. 6 ilustra un cambio en la expresión génica de productos génicos de expresión proinflamatorios, asociados con la patogénesis de la psoriasis (IL-12/23 p40; iNOS; IL-22; IL-8; DEFB4; MX1; queratina 16; IL-17A; IL-23 p19; IL-10; IFN γ ; MIG; TNF α ; e IL-2) 12 semanas después de la administración de 20 mg de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida dos veces al día (b.i.d.) en respondedores y no

respondedores.

La FIG. 7 ilustra la correlación entre un cambio en la expresión génica de IFN γ en piel lesionada con psoriasis, 4 semanas después de la administración de 20 mg de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida dos veces al día (b.i.d.) y la puntuación PASI, 12 semanas después de la administración de 20 mg del mismo compuesto dos veces al día (b.i.d.).

La FIG. 8 ilustra la correlación entre un cambio en la tinción de Langerina en piel lesionada con psoriasis, 4 semanas después de la administración de 20 mg de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida dos veces al día (b.i.d.) y la puntuación PASI, 12 semanas después de la administración de 20 mg del mismo compuesto dos veces al día (b.i.d.).

4.2 Definiciones

Tal y como se usa en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a una acción que se produce mientras que un paciente padece psoriasis, la cual reduce la gravedad de la psoriasis o retarda o retrasa la progresión del cáncer.

El término "sensibilidad" y "sensible" cuando hace referencia a un tratamiento es un término relativo que se refiere al grado de eficacia de un compuesto de tratamiento para reducir o disminuir los síntomas de la enfermedad que está siendo tratada. Por ejemplo, la expresión "aumento de la sensibilidad" cuando se utiliza haciendo referencia al tratamiento de una célula o un paciente, se refiere a un aumento de al menos un 5% o más, en la eficacia de la reducción o la disminución de los síntomas de la psoriasis, cuando se mide utilizando cualquier método bien aceptado en la técnica.

Tal y como se usa en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o el control de la psoriasis o para retrasar o minimizar uno o varios síntomas asociados con la psoriasis. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, sola o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o el control de la psoriasis. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" puede incluir una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita los síntomas o causas de la psoriasis, o aumenta la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

Tal y como se usa en este documento, una "respuesta eficaz del paciente" se refiere a cualquier aumento en el beneficio terapéutico para el paciente. Una "respuesta eficaz del tumor de un paciente" puede ser, por ejemplo, un 5%, 10%, 25%, 50% o 100% de disminución de los síntomas físicos de la psoriasis.

El término "probabilidad" se refiere generalmente a un aumento de la probabilidad de un evento. El término "probabilidad" cuando se utiliza haciendo referencia a la eficacia de una respuesta del paciente, generalmente contempla un aumento de la probabilidad de que los síntomas de la psoriasis se puedan reducir o disminuir.

El término "predecir" significa generalmente determinar o decir por adelantado. Cuando se usa para "predecir" la eficacia de un tratamiento de la psoriasis, por ejemplo, el término "predecir" puede significar que la probabilidad de que el resultado del tratamiento se pueda determinar al comienzo, antes de que el tratamiento haya comenzado o antes de que el periodo de tratamiento haya progresado sustancialmente.

La expresión "realizar un seguimiento", tal y como se utiliza en este documento, se refiere generalmente a la vigilancia, la supervisión, la regulación, la observación, el seguimiento o el cuidado de una actividad. Por ejemplo, la expresión "realizar un seguimiento de la eficacia de un tratamiento para la psoriasis" se refiere al seguimiento de la eficacia en el tratamiento de la psoriasis en un paciente o en una célula, por lo general obtenida a partir de un paciente. Del mismo modo, el término "realizar un seguimiento", cuando se usa en relación con el cumplimiento de un paciente, ya sea individualmente o en un ensayo clínico, se refiere al seguimiento o la confirmación de que el paciente está siguiendo realmente el régimen de tratamiento al que se está sometiendo a ensayo como se ha prescrito.

Tal y como se usa en este documento, los términos "polipéptido" y "proteína", tal y como se emplean de forma intercambiable en este documento, se refieren a un polímero de aminoácidos de tres o más aminoácidos en una distribución en serie, unidos a través de enlaces peptídicos. El término "polipéptido" incluye proteínas, fragmentos de proteínas, análogos de proteínas, oligopéptidos y similares. El término polipéptido tal y como se usa en el presente documento, también puede referirse a un péptido. Los aminoácidos que constituyen el polipéptido pueden ser de origen natural o pueden ser sintéticos. El polipéptido se puede purificar a partir de una muestra biológica.

El término "anticuerpo" se usa en este documento en el sentido más amplio e incluye anticuerpos completamente ensamblados, fragmentos de anticuerpos que conservan la capacidad de unirse específicamente al antígeno (por ejemplo, Fab, F(ab')₂, Fv y otros fragmentos), anticuerpos de cadena sencilla, diacuerpos, quimeras de anticuerpos, anticuerpos híbridos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos humanizados y similares. El término "anticuerpo" incluye tanto anticuerpos policlonales como monoclonales.

El término "expresado" o "expresión" tal y como se usa en el presente documento, se refiere a la transcripción desde

un gen para proporcionar una molécula de ácido nucleico ARN al menos complementario en parte a una región de una de las dos cadenas de ácido nucleico del gen. El término "expresado" o "expresión" tal y como se usa en el presente documento, también se refiere a la traducción desde la molécula de ARN para proporcionar una proteína, un polipéptido o una porción de los mismos.

- 5 Un ARNm que está "regulado al alza" está generalmente "incrementado" sobre un tratamiento o condición dada. Un ARNm que está "regulado a la baja" generalmente se refiere a una "disminución" en el nivel de expresión del ARNm como respuesta a un tratamiento o condición dada. En algunas situaciones, el nivel de ARNm puede permanecer sin cambios después de un tratamiento o condición dada. Un ARNm de una muestra de un paciente puede estar "regulado al alza", es decir, el nivel de ARNm se puede aumentar, por ejemplo, en aproximadamente un 5%, 10%, 20%, 30% 40%, 50%, 60%, 70%, 90%, 100%, 200%, 300%, 500%, 1.000%, 5.000% o más del nivel del ARNm de control comparativo. Alternativamente, un ARNm puede estar "regulado a la baja", es decir, el nivel de nivel de ARNm se puede disminuir, por ejemplo, en aproximadamente un 99%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% o menos del nivel del ARNm de control comparativo.

- 15 De manera similar, el nivel de un polipéptido o una proteína biomarcadora procedente de una muestra de un paciente se puede aumentar en comparación con un control no tratado. Este aumento puede ser de aproximadamente 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 90%, 100%, 200%, 300%, 500%, 1.000%, 5.000% o más del nivel de proteína de control comparativo. Alternativamente, el nivel de un biomarcador proteico se puede disminuir. Esta disminución puede estar presente, por ejemplo, a un nivel de aproximadamente 99%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 1% o menos del nivel de proteína de control comparativo.

- 20 La expresión "moduladores de PDE4" se refiere a una molécula o un compuesto que inhibe PDE4. En una realización, los moduladores de PDE4 pueden ser los que están disponibles en Celgene Corporation (proporcionados en el presente documento en otra parte), que inhiben potentemente la producción de TNF- α , pero muestran efectos inhibidores modestos sobre IL-1 β e IL-12 inducidas con LPS, y no inhiben IL-6 incluso con concentraciones elevadas de fármaco. Además, los inhibidores de PDE4 tienden a producir una estimulación modesta de IL-10. L.G. Corral, et al., *Ann. Rheuma. Dis.*, 58: (Supl I) 1107-1113 (1999).

- 25 Los términos "determinar", "medir", "evaluar", "valorar" y "someter a ensayo" tal y como se utilizan en este documento, generalmente se refieren a cualquier forma de medición e incluyen la determinación de si un elemento está presente o no. Estos términos incluyen determinaciones cuantitativas y/o cualitativas. La evaluación puede ser relativa o absoluta. "Una evaluación de la presencia de", puede incluir la determinación de la cantidad de algo presente, así como la determinación de si está presente o ausente.

- 30 Las expresiones "ácido nucleico" y "polinucleótido" se usan indistintamente en este documento para describir un polímero de cualquier longitud, compuesto por nucleótidos, por ejemplo, desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos o compuestos producidos sintéticamente, que se pueden hibridar con ácidos nucleicos de origen natural de una manera específica de la secuencia, de forma análoga a la de dos ácidos nucleicos naturales, por ejemplo, pueden participar en las interacciones de apareamiento de bases de Watson-Crick. Tal y como se usa en el presente documento, en el contexto de una secuencia de polinucleótidos, el término "bases" (o "base") es sinónimo de "nucleótidos" (o "nucleótido"), es decir, la subunidad de un monómero de un polinucleótido. Los términos "nucleósido" y "nucleótido" se entiende que incluyen aquellos restos que contienen no solo las bases conocidas de purina y pirimidina, sino también otras bases heterocíclicas que han sido modificadas. Tales modificaciones incluyen purinas o pirimidinas metiladas, purinas o pirimidinas aciladas, ribosas alquiladas u otros heterociclos. Además, los términos "nucleósido" y "nucleótido" incluyen aquellos restos que no solo contienen azúcares convencionales de ribosa y desoxirribosa, sino también otros azúcares. Los nucleósidos o nucleótidos modificados también incluyen modificaciones en el resto azúcar, por ejemplo, en donde uno o varios de los grupos hidroxilo están reemplazados con átomos de halógeno o grupos alifáticos, o se funcionalizan como éteres, aminas o similares. Los "análogos" se refieren a moléculas que tienen características estructurales que están reconocidas en las publicaciones por ser miméticos, derivados que tienen estructuras análogas, u otros términos similares, e incluyen, por ejemplo, polinucleótidos que incorporan nucleótidos no naturales, miméticos de nucleótidos tales como nucleósidos modificados en 2', ácidos nucleicos peptídicos, fosfonatos de nucleósidos oligoméricos y cualquier polinucleótido que tiene grupos sustituyentes añadidos, tales como grupos protectores o restos enlazantes.

- 50 El término "complementario" se refiere a la unión específica entre polinucleótidos que se basa en las secuencias de los polinucleótidos. Tal y como se usa en el presente documento, un primer polinucleótido y un segundo polinucleótido son complementarios si se unen entre sí en un ensayo de hibridación en condiciones rigurosas, por ejemplo, si producen un nivel dado o detectable de señal en un ensayo de hibridación. Las porciones de polinucleótidos son complementarias entre sí si siguen las normas de apareamiento de bases convencionales, por ejemplo, A se empareja con T (o U) y G se empareja con C, aunque pueden estar presentes regiones pequeñas (por ejemplo, de menos de aproximadamente 3 bases) de una secuencia desemparejada, de inserción o delecionada.

"Identidad de secuencia" o "identidad" en el contexto de dos secuencias de ácido nucleico, se refiere a los residuos en las dos secuencias que son iguales cuando se alinean para tener una correspondencia máxima sobre una ventana de comparación especificada y se pueden tener en consideración adiciones, supresiones y sustituciones.

La expresión "identidad sustancial" o "homólogo" en sus diversas formas gramaticales en el contexto de polinucleótidos, generalmente significa que un polinucleótido comprende una secuencia que tiene una identidad deseada, por ejemplo, al menos 60% de identidad, preferiblemente al menos 70% de identidad, más preferiblemente al menos 80%, aún más preferiblemente al menos 90% e incluso más preferiblemente al menos 95%, en comparación con una secuencia de referencia. Otra indicación de que unas secuencias de nucleótidos son sustancialmente idénticas es si dos moléculas se hibridan entre sí en condiciones rigurosas.

Tal y como se usa en el presente documento, el término "unido" se puede utilizar en el presente documento para indicar una fijación directa o indirecta. En el contexto de estructuras químicas, "unido" (o "enlazado") se puede referir a la existencia de un enlace químico que une directamente dos restos o une indirectamente dos restos (por ejemplo, a través de un grupo enlazador o cualquier otra porción intercalada de la molécula). El enlace químico puede ser un enlace covalente, un enlace iónico, un complejo de coordinación, un enlace de hidrógeno, interacciones de van der Waals o apilamiento hidrofóbico o puede mostrar características de múltiples tipos de enlaces químicos. En ciertos casos, "unido" incluye realizaciones en las que la fijación es directa y también realizaciones en las que la fijación es indirecta.

Los términos "aislado" y "purificado" se refieren al aislamiento de una sustancia (tal como un ARNm o una proteína) de modo que la sustancia comprende una porción sustancial de la muestra en la que reside, es decir, que es mayor que la sustancia que se encuentra normalmente en su estado natural o no aislado. Normalmente, una porción sustancial de la muestra comprende, por ejemplo, más del 1%, más del 2%, más del 5%, más del 10%, más del 20%, más del 50% o más, por lo general hasta aproximadamente 90%-100% de la muestra. Por ejemplo, una muestra de ARNm aislado, normalmente puede comprender al menos aproximadamente 1% del ARNm total. Las técnicas para purificar polinucleótidos son bien conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, electroforesis en gel, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad, clasificación por flujo y sedimentación según la densidad.

El término "muestra" tal y como se usa en el presente documento, se refiere a un material o una mezcla de materiales, normalmente, aunque no necesariamente, en forma fluida, que contiene uno o varios componentes de interés.

"Muestra biológica" tal y como se usa en el presente documento, se refiere a una muestra obtenida a partir de un sujeto biológico, incluyendo una muestra de tejido biológico o de origen fluido, obtenida, alcanzada o recogida *in vivo* o *in situ*. Una muestra biológica también incluye muestras procedentes de una región de un sujeto biológico que contiene células o tejidos precancerosos o cancerosos. Tales muestras pueden ser, pero no se limitan a, órganos, tejidos, fracciones y células aisladas a partir de un mamífero. Las muestras biológicas ejemplares incluyen pero no se limitan a un lisado celular, un cultivo celular, una línea celular, un tejido, tejido oral, tejido gastrointestinal, un órgano, un orgánulo, un fluido biológico, una muestra de sangre, una muestra de orina, una muestra de piel y similares. Las muestras biológicas preferidas incluyen, pero no se limitan a, sangre completa, sangre parcialmente purificada, PBMCs, biopsias de tejido y similares.

El término "analito" tal y como se usa en el presente documento, se refiere a un componente conocido o desconocido de una muestra.

La expresión "agente de captura", tal y como se usa en el presente documento, se refiere a un agente que se une a un ARNm o a una proteína a través de una interacción que es suficiente para permitir que el agente se una y concentre el ARNm o la proteína desde una mezcla homogénea.

El término "sonda", tal y como se usa en el presente documento, se refiere a un agente de captura que se dirige a una secuencia biomarcadora específica de un ARNm diana. En consecuencia, cada sonda de un conjunto de sondas tiene un biomarcador de ARNm diana respectivo. Un dúplex de sonda/ARNm diana es una estructura formada mediante la hibridación de una sonda con su biomarcador de ARNm diana.

La expresión "ácido nucleico" o "sonda de oligonucleótido" se refiere a un ácido nucleico capaz de unirse a un ácido nucleico diana de una secuencia complementaria, tal como los biomarcadores de ARNm proporcionados en este documento, a través de uno o varios tipos de enlaces químicos, normalmente a través de un apareamiento de bases complementarias, normalmente mediante la formación de enlaces de hidrógeno. Tal y como se usa en este documento, una sonda puede incluir bases naturales {por ejemplo, A, G, C o T} o bases modificadas (7-desazaguanosina, inosina, etc.). Además, las bases en una sonda pueden estar unidas por un enlace distinto a un enlace fosfodiéster, con tal de que no interfiera con la hibridación. Un experto en la técnica entenderá que las sondas se pueden unir a secuencias diana que carecen de una complementariedad completa con la secuencia de la sonda, dependiendo del grado de rigor de las condiciones de hibridación. Las sondas se marcan preferiblemente de forma directa con isótopos, por ejemplo, cromóforos, lumíforos, cromógenos, o se marcan de forma indirecta con biotina a la que se puede unir después un complejo de estreptavidina. Al someter a ensayo la presencia o ausencia de la sonda, se puede detectar la presencia o ausencia de un biomarcador de ARNm diana de interés.

La expresión "condiciones de ensayo rigurosas" se refiere a condiciones que son compatibles para producir parejas de ácidos nucleicos que se unen, por ejemplo, sondas y ARNm diana, con una complementariedad suficiente para proporcionar el nivel deseado de especificidad en el ensayo, siendo al mismo tiempo en general incompatibles para la formación de parejas de unión entre miembros que se unen con una complementariedad insuficiente para propor-

cionar la especificidad deseada. La expresión "condiciones de ensayo rigurosas" se refiere generalmente a la combinación de condiciones de hibridación y de lavado.

Un "marcador" o un "resto detectable", en referencia a un ácido nucleico, se refiere a una composición que, cuando se une con un ácido nucleico, hace que el ácido nucleico sea detectable, por ejemplo, por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos o químicos. Los marcadores ejemplares incluyen, pero no se limitan a, isótopos radiactivos, perlas magnéticas, perlas metálicas, partículas coloidales, colorantes fluorescentes, enzimas, biotina, digoxigenina, haptenos y similares. Un "ácido nucleico marcado o una sonda de oligonucleótidos marcada" es generalmente una que está unida, covalentemente, a través de un enlazador o un enlace químico, o no covalentemente, a través de enlaces iónicos, fuerzas de van der Waals, atracciones electrostáticas, interacciones hidrófobas o enlaces de hidrógeno, a un marcador de modo que se puede detectar la presencia del ácido nucleico o la sonda, al detectar la presencia del marcador unido al ácido nucleico o la sonda.

La expresión "reacción en cadena de la polimerasa" o "PCR", tal y como se usa en este documento, generalmente se refiere a un procedimiento en el que pequeñas cantidades de un ácido nucleico, ARN y/o ADN, se amplifican como se describe, por ejemplo, en el documento de patente de EE.UU. n° 4.683.195 de Mullis. Generalmente, la información de la secuencia desde los extremos de la región de interés o más allá, tiene que estar disponible, de tal manera que se pueden diseñar cebadores de oligonucleótidos; estos cebadores serán idénticos o similares en su secuencia a las cadenas opuestas del molde que se va a amplificar. Los nucleótidos 5' terminales de los dos cebadores pueden coincidir con los extremos del material amplificado. La PCR se puede usar para amplificar secuencias de ARN específicas, secuencias de ADN específicas procedentes de ADN genómico total y ADNc transcrito a partir de ARN celular total, secuencias de bacteriófagos o plásmidos, etc. Véase en general, Mullis et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51: 263 (1987); Erlich, compilador, PCR Technology, (Stockton Press, NY, 1989).

La expresión "número de ciclo" o "CT" cuando se usa en este documento haciendo referencia a los métodos de PCR, se refiere al número de ciclo de la PCR en el que el nivel de fluorescencia sobrepasa un nivel de umbral determinado dado. La medición del CT se puede utilizar, por ejemplo, para aproximar niveles de ARNm en una muestra original. La medición del CT se utiliza a menudo en términos de "dCT" o la "diferencia en la puntuación del CT", cuando el CT de un ácido nucleico se resta del CT de otro ácido nucleico.

Tal y como se usa en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, la expresión "ópticamente pura" significa una composición que comprende un isómero óptico de un compuesto y está sustancialmente exenta de otros isómeros de ese compuesto. Por ejemplo, una composición ópticamente pura de un compuesto que tiene un centro quiral, estará sustancialmente exenta del enantiómero opuesto del compuesto. Una composición ópticamente pura de un compuesto que tiene dos centros quirales, estará sustancialmente exenta de otros diastereómeros del compuesto. Un compuesto típico ópticamente puro comprende más de aproximadamente 80% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 20% en peso de otros enantiómeros del compuesto, más preferiblemente más de aproximadamente 90% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 10% en peso de los otros enantiómeros del compuesto, incluso más preferiblemente, más de aproximadamente 95% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 5% en peso de los otros enantiómeros del compuesto, más preferiblemente más de aproximadamente 97% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 3% en peso de los otros enantiómeros del compuesto y lo más preferiblemente, más de aproximadamente 99% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 1% en peso de los otros enantiómeros del compuesto.

La puesta en práctica de las realizaciones proporcionadas en este documento empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología molecular, microbiología e inmunología, que están dentro de la experiencia de los que trabajan en la técnica. Tales técnicas se explican a fondo en la bibliografía. Ejemplos de textos particularmente adecuados para consulta incluyen los siguientes: Sambrook et al. (1989) Molecular Cloning; A Laboratory Manual (2ª ed.); D.N. Glover, compilador (1985) DNA Cloning, volúmenes I y II; M.J. Gait, compilador (1984) Oligonucleotide Synthesis; B.D. Hames & S.J. Higgins, compiladores (1984) Nucleic Acid Hybridization; B.D. Hames & S.J. Higgins, compiladores (1984) Transcription and Translation; R.I. Freshney, compilador (1986) Animal Cell Culture; Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, 1986); Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology (Academic Press, London); Scopes (1987) Protein Purification: Principles and Practice (2ª ed.; Springer Verlag, N.Y.); y D.M. Weir y C. C. Blackwell, compiladores (1986) Handbook of Experimental Immunology, volúmenes I-IV.

4.3 Biomarcadores

En el presente documento se proporcionan métodos relacionados con el uso de moléculas marcadoras celulares y ARNm como biomarcadores para predecir o determinar la eficacia de un tratamiento para la psoriasis. Los marcadores celulares o los niveles de ARNm se pueden utilizar para determinar si un tratamiento es probable que tenga éxito en modelos celulares de enfermedad.

Un marcador biológico o un "biomarcador" es una sustancia cuya detección indica un estado biológico particular, tal como, por ejemplo, el progreso de la psoriasis. En algunas realizaciones, los biomarcadores o bien se pueden determinar de forma individual o varios biomarcadores pueden ser medidos de forma simultánea.

En algunas realizaciones, un "biomarcador" indica un cambio en el nivel de expresión de ácidos nucleicos que se puede correlacionar con el riesgo o la progresión de una enfermedad o con la susceptibilidad de la enfermedad frente a un tratamiento dado. En algunas realizaciones, el biomarcador es un ARNm o un ADNc.

- 5 En realizaciones adicionales, un "biomarcador" indica un cambio en el nivel de ciertos marcadores celulares que puede estar correlacionado con el riesgo, la susceptibilidad al tratamiento o la progresión de una enfermedad. El nivel relativo de marcadores específicos celulares se puede determinar por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, métodos basados en anticuerpos, tales como una inmunotransferencia, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) u otros métodos, se pueden utilizar.

4.3.1 Uso de marcadores celulares como biomarcadores para predecir la eficacia

- 10 Basándose, en parte, en el descubrimiento de que se observa un aumento o una disminución detectable de ciertos marcadores celulares durante el tratamiento de la psoriasis, los niveles de esos marcadores celulares se pueden emplear como un biomarcador para predecir la sensibilidad de un tratamiento potencial de la psoriasis. Los marcadores celulares incluyen CD3, CD56, Langerina y Foxp3. Cada uno de estos biomarcadores se puede controlar por separado o dos o más de los biomarcadores se pueden supervisar de forma simultánea.
- 15 En algunas realizaciones, estos biomarcadores se pueden usar para predecir la eficacia de un tratamiento de la psoriasis en un paciente. En una realización, el nivel del biomarcador se mide en una muestra biológica obtenida a partir de un paciente potencial. Alternativamente, los marcadores celulares también se pueden usar como un biomarcador para un ensayo *in vitro* para predecir el éxito de un tratamiento de la psoriasis, tomando una muestra de células del paciente, cultivándolas en presencia o ausencia del compuesto de tratamiento y sometiendo a ensayo las células para estudiar un aumento o una disminución de los niveles de los biomarcadores.
- 20

Por lo tanto, en una realización, se proporciona en este documento un método para predecir si un paciente será sensible a un tratamiento para la psoriasis que comprende:

cultivar células procedentes de una muestra de piel del paciente en presencia o ausencia del compuesto de tratamiento;

- 25 medir el nivel de un marcador celular seleccionado a partir de, CD3, CD56, Foxp3 y una combinación de los mismos; y

comparar el nivel del marcador celular en las células cultivadas en presencia del compuesto de tratamiento con el de las células cultivadas en ausencia del compuesto de tratamiento;

- 30 en donde una disminución del nivel del marcador celular en presencia del compuesto de tratamiento indica la probabilidad de una respuesta eficaz del paciente frente al compuesto de tratamiento.

En una realización, el nivel de solamente uno de los marcadores celulares se supervisa. En otra realización, los niveles de dos o más de los marcadores celulares se controlan simultáneamente.

- 35 En un aspecto descrito, las células de la muestra procedentes de un paciente se obtienen usando una biopsia de la piel. En un aspecto descrito, las células de la muestra procedentes de un paciente se obtienen a partir de la región de la dermis del paciente. En otro aspecto descrito, las células de la muestra procedentes de un paciente se obtienen a partir de la región de la epidermis del paciente.

- 40 En una realización, el compuesto de tratamiento es un inhibidor de PDE4 proporcionado en otra parte en el presente documento. En otro aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida. En otra realización, el compuesto de tratamiento es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.

En otro aspecto, se describe en este documento un método para predecir si un paciente será sensible a un tratamiento para la psoriasis que comprende:

- 45 cultivar las células procedentes de la región de la epidermis del paciente en presencia o ausencia del compuesto de tratamiento;

medir el nivel de Langerina en las células; y

comparar el nivel de Langerina en las células cultivadas en presencia del compuesto de tratamiento con el de las células cultivadas en ausencia del compuesto de tratamiento;

- 50 en donde una disminución del nivel de Langerina en presencia del compuesto de tratamiento indica la probabilidad de una respuesta eficaz del paciente frente al compuesto de tratamiento.

En un aspecto descrito, las células de la muestra procedentes del paciente se obtienen usando una biopsia de la

piel. En un aspecto descrito, las células de la muestra procedentes del paciente se obtienen a partir de la región de la dermis del paciente. En otro aspecto descrito, las células de la muestra procedentes del paciente se obtienen a partir de la región de la epidermis del paciente.

En un aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es un inhibidor de PDE4 proporcionado en otra parte en el presente documento. En otro aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida. En otra realización, el compuesto de tratamiento es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.

4.3.2 Uso de marcadores celulares como biomarcadores para el seguimiento de la eficacia o el cumplimiento del paciente

Además de la predicción inicial de la probabilidad de eficacia de un tratamiento en un paciente con psoriasis, el progreso de un tratamiento de la psoriasis se puede controlar mediante una supervisión de los niveles de los marcadores celulares descritos anteriormente. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se proporciona un método para evaluar o supervisar la eficacia de un tratamiento de la psoriasis en un paciente. Se obtiene una muestra del paciente y se miden los niveles de uno o varios de los biomarcadores descritos anteriormente para determinar si sus niveles aumentan o disminuyen en comparación con los niveles antes de iniciar el tratamiento.

Los biomarcadores también se pueden utilizar para realizar un seguimiento y ajustar la eficacia de un tratamiento para un paciente individual. Los biomarcadores se pueden emplear para obtener una información necesaria para realizar ajustes en el tratamiento de un paciente, aumentando o disminuyendo la dosis de un agente según sea necesario. Por ejemplo, un paciente que recibe un compuesto de tratamiento se puede someter a ensayo usando un biomarcador para ver si la dosificación está siendo eficaz o si puede ser necesario un plan de tratamiento más agresivo.

En una realización, se proporciona en este documento un método para supervisar la respuesta del paciente a un tratamiento de la psoriasis que comprende:

medir el nivel de un marcador celular seleccionado a partir de CD3, CD56, Foxp3, Langerina y una combinación de los mismos, en una primera muestra de piel procedente del paciente;

medir el nivel de un marcador celular seleccionado a partir de CD3, CD56, Foxp3, Langerina, y una combinación de los mismos, en una segunda muestra de piel obtenida después de administrar un compuesto de tratamiento al paciente; y

comparar los niveles de marcador celular obtenido a partir de la primera y la segunda muestras biológicas;

en donde una disminución del nivel del marcador celular en la segunda muestra de piel, indica una respuesta eficaz.

Los pacientes pueden facilitar la muestra de células a través de cualquier medio deseado, tal como, por ejemplo, una biopsia de la piel. Las muestras se pueden obtener, por ejemplo, todos los días, una vez por semana, dos veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, trimestral o anualmente, según sea necesario para seguir la eficacia del tratamiento. En una realización, los ensayos se llevan a cabo una vez 4 semanas después del tratamiento y una vez 12 semanas después del tratamiento. Mediante el control de los niveles de estos biomarcadores, se puede realizar un seguimiento de la eficacia del tratamiento a lo largo del tiempo.

En una realización, se supervisa el nivel de solamente uno de los marcadores celulares. En otra realización, se supervisan los niveles de dos o más de los marcadores celulares simultáneamente.

En un aspecto descrito, el nivel de CD11c obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 30%, 35%, 40% o 45% o más en comparación con el nivel de CD11c en la primera muestra biológica. En otro aspecto descrito, el nivel de CD11c obtenido a partir de la región de la epidermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 60%, 65%, 70% o 75% o más en comparación con el nivel de CD11c en la primera muestra biológica.

En una realización, el nivel de CD3 obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 15%, 20%, 25% o 30% o más en comparación con el nivel de CD3 en la primera muestra de piel. En otra realización, el nivel de CD3 obtenido a partir de la región de epidermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 25%, 30%, 35% o 40% o más en comparación con el nivel de CD3 en la primera muestra de piel.

En una realización, el nivel de CD56 obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 15%, 20%, 25% o 30% o más en comparación con el nivel de CD56 en la primera muestra de piel. En otra realización, el nivel de CD56 obtenido a partir de la región de epidermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 60%, 65%, 70% o 75% o más en comparación con el nivel de CD56 en la primera muestra de piel.

En una realización, el nivel de Langerina obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel de Langerina en la primera muestra

de piel.

En un aspecto descrito, las células de la muestra de un paciente se obtienen usando una biopsia de la piel. En un aspecto descrito, las células de la muestra de un paciente se obtienen a partir de la región de la dermis del paciente. En otro aspecto descrito, las células de la muestra de un paciente se obtienen a partir de la región de la epidermis del paciente.

En un aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es uno proporcionado en otra parte en el presente documento. En otro un aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida. En otra realización, el compuesto de tratamiento es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.

En otra realización, se proporciona en este documento un método para el tratamiento de la psoriasis que comprende:

medir el nivel de Langerina en una primera muestra de piel a partir de la región de la epidermis del paciente;

medir el nivel de Langerina en una segunda muestra de piel obtenida a partir de la región de la epidermis del paciente después de la administración de un compuesto de tratamiento al paciente; y

comparar los niveles de Langerina obtenidos a partir de la primera y la segunda muestras de piel;

en donde una disminución del nivel de Langerina en la segunda muestra de piel indica una respuesta eficaz.

En una realización, la disminución en el nivel de Langerina es de aproximadamente el 5%, 10%, 15% o 20% en comparación con el nivel de Langerina en la primera muestra de piel.

Una vez más, los pacientes pueden facilitar la muestra de células a través de cualquier medio deseado, tal como, por ejemplo, una biopsia de la piel. Las muestras se pueden obtener, por ejemplo, todos los días, una vez por semana, dos veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, trimestral o anualmente, según sea necesario para seguir la eficacia del tratamiento. En una realización, los ensayos se llevan a cabo una vez 4 semanas después del tratamiento y una vez 12 semanas después del tratamiento. Mediante el control de los niveles de estos biomarcadores, se puede realizar un seguimiento de la eficacia del tratamiento a lo largo del tiempo. En una realización, las células de la muestra de un paciente se obtienen usando una biopsia de la piel.

En un aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es un inhibidor de PDE4 proporcionado en otra parte en el presente documento. En otro aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida. En otra realización, el compuesto de tratamiento es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.

En otras realizaciones, estos biomarcadores se pueden utilizar además para realizar un seguimiento o realizar un control de calidad en los ensayos de investigación humanos o para supervisar el cumplimiento del paciente de un régimen de fármacos, al proporcionar un medio para confirmar que el paciente está recibiendo tratamientos de fármacos específicos. Estos biomarcadores se pueden usar en conexión con, por ejemplo, el control del tratamiento del paciente, ensayos clínicos e investigación basada en células.

En una realización, estos biomarcadores se pueden usar para realizar un seguimiento del cumplimiento del paciente durante regímenes de tratamiento individuales o durante ensayos clínicos. Por ejemplo, los niveles de los biomarcadores se pueden controlar a intervalos fijos durante un ensayo clínico para asegurar que los pacientes incluidos en el ensayo están tomando los fármacos según las instrucciones. El tratamiento de pacientes individuales también se puede controlar utilizando el procedimiento. Por ejemplo, cuando se mide el nivel de un biomarcador particular, una alteración del nivel del biomarcador en comparación con el de un control no tratado, indica un cumplimiento del paciente al menos parcial del protocolo de tratamiento con fármacos. Una alteración del nivel del biomarcador que es una cantidad similar a la de un control positivo, indica la probabilidad de un cumplimiento total del protocolo de tratamiento.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, se proporciona un método para evaluar el cumplimiento de un paciente de un protocolo de tratamiento con fármacos. Una muestra biológica se obtiene a partir del paciente y los niveles de los biomarcadores se miden y se comparan con los de una muestra no tratada de control. Un nivel alterado de los biomarcadores en comparación con los de una muestra de control no tratada, indica el cumplimiento del protocolo.

En una realización, se proporciona en este documento un método para supervisar del cumplimiento del paciente de un protocolo de tratamiento con fármacos para la psoriasis, que comprende:

medir el nivel de un marcador celular seleccionado a partir de CD3, CD56, Foxp3, Langerina y una combinación de los mismos en una muestra de piel del paciente; y

determinar si el nivel de expresión ha disminuido en la muestra de piel en comparación con el nivel de expresión en

una muestra de control no tratada;

en donde una disminución de la expresión indica el cumplimiento del paciente con dicho protocolo de tratamiento con fármacos.

5 Los pacientes pueden facilitar la muestra de células a través de cualquier medio deseado, tal como, por ejemplo, una biopsia de la piel. Las muestras se pueden obtener, por ejemplo, todos los días, una vez por semana, dos veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, trimestral o anualmente, según sea necesario para seguir la eficacia del tratamiento. Mediante el control de los niveles de estos biomarcadores, se puede supervisar el cumplimiento del paciente a lo largo del tiempo.

10 En una realización, se supervisa solo el nivel de uno de los marcadores celulares. En otra realización, se supervisan simultáneamente los niveles de dos o más de los marcadores celulares.

15 En un aspecto descrito, el nivel de CD11c obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 30%, 35%, 40% o 45% o más en comparación con el nivel de CD11c en la primera muestra biológica. En otro aspecto descrito, el nivel de CD11c obtenido a partir de la región de la epidermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 60%, 65%, 70% o 75% o más en comparación con el nivel de CD11c en la primera muestra biológica.

En una realización, el nivel de CD3 obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 15%, 20%, 25% o 30% o más en comparación con el nivel de CD3 en la primera muestra de piel. En otra realización, el nivel de CD3 obtenido a partir de la región de la epidermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 25%, 30%, 35% o 40% o más en comparación con el nivel de CD3 en la primera muestra de piel.

20 En una realización, el nivel de CD56 obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 15%, 20%, 25% o 30% o más en comparación con el nivel de CD56 en la primera muestra de piel. En otra realización, el nivel de CD56 obtenido a partir de la región de la epidermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 60%, 65%, 70% o 75% o más en comparación con el nivel de CD56 en la primera muestra de piel.

25 En una realización, el nivel de Langerina obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel de Langerina en la primera muestra de piel.

30 En un aspecto descrito, las células de la muestra de un paciente se obtienen usando una biopsia de la piel. En un aspecto descrito, las células de la muestra de un paciente se obtienen a partir de la región de la dermis del paciente. En otro aspecto descrito, las células de la muestra de un paciente se obtienen a partir de la región de la epidermis del paciente.

35 En un aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es un inhibidor de PDE4 proporcionado en otra parte en el presente documento. En otro aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida. En otra realización, el compuesto de tratamiento es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.

En otra realización, se proporciona en este documento un método con un protocolo de tratamiento con fármacos para la psoriasis, que comprende:

medir el nivel de Langerina en una muestra de piel procedente de la región de la epidermis de dicho paciente; y

40 determinar si el nivel de expresión está disminuido en la muestra de piel en comparación con el nivel de expresión en una muestra no tratada de control;

en donde una disminución de la expresión indica el cumplimiento del paciente con dicho protocolo de tratamiento con fármacos.

45 En un aspecto descrito, la disminución del nivel de Langerina es aproximadamente del 5%, 10%, 15% o 20% en comparación con el nivel de Langerina en la primera muestra de piel.

50 Una vez más, los pacientes pueden facilitar la muestra de células a través de cualquier medio deseado, tal como, por ejemplo, una biopsia de la piel. Las muestras se pueden obtener, por ejemplo, todos los días, una vez por semana, dos veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, trimestral o anualmente, según sea necesario para seguir la eficacia del tratamiento. En un aspecto descrito, los ensayos se llevan a cabo una vez 4 semanas después del tratamiento y una vez 12 semanas después del tratamiento. Mediante el control de los niveles de estos biomarcadores, se puede realizar un seguimiento de la eficacia del tratamiento a lo largo del tiempo. En un aspecto descrito, las células de la muestra de un paciente se obtienen usando una biopsia de la piel.

En un aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es un inhibidor de PDE4 proporcionado en otra parte en el

presente documento. En otro aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisoindolin-4-il)acetamida. En otra realización, el compuesto de tratamiento es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.

5 4.3.3 Uso de los ARNm como biomarcadores para predecir la eficacia

Basándose en parte, en el descubrimiento de que se observa una disminución detectable en ciertos ARNm durante el tratamiento de la psoriasis, los niveles de esos ARNm se pueden usar como un biomarcador para predecir la sensibilidad de un tratamiento potencial de la psoriasis. Los ARNm incluyen, pero no se limitan a, los ARNm de queratina 16, iNOS, IL-12/IL-23 p40, IL-23 p19, IL-17A, IL-22, DEFB4, IL-8, MX-1, IL-10, IFN-γ y/o CXCL9. Cada uno de estos biomarcadores se puede supervisar por separado, o dos o más de los biomarcadores se pueden supervisar de forma simultánea.

En algunas realizaciones, estos biomarcadores se pueden usar para predecir la eficacia de un tratamiento de la psoriasis en un paciente. En una realización, el nivel del biomarcador se mide en una muestra biológica obtenida a partir de un paciente potencial. Alternativamente, los marcadores celulares también se pueden usar como un biomarcador para un ensayo *in vitro* para predecir el éxito de un tratamiento de la psoriasis, tomando una muestra de células del paciente, cultivándola en presencia o ausencia del compuesto de tratamiento y sometiendo a ensayo las células para estudiar un aumento o una disminución de los niveles de los biomarcadores.

Por lo tanto, en una realización, se proporciona en este documento un método para predecir si un paciente será sensible a un tratamiento de la psoriasis que comprende:

20 cultivar células procedentes de una muestra de piel del paciente en presencia o ausencia del compuesto de tratamiento;

medir el nivel de un ARNm seleccionado a partir de los ARNm de queratina 16, IL-12/IL-23 p40, IL-23 p19, IL-17A, IL-22, DEFB4, IL-8, MX-1, IL-10, IFN-γ, CXCL9 y una combinación de los mismos; y

25 comparar el nivel del ARNm en las células cultivadas en presencia del compuesto de tratamiento con el de las células cultivadas en ausencia del compuesto de tratamiento;

en donde una disminución del nivel de ARNm en presencia del compuesto de tratamiento indica la probabilidad de una respuesta eficaz del paciente frente al compuesto de tratamiento.

En una realización, se supervisa el nivel de solo un ARNm. En otra realización, se supervisa simultáneamente los niveles de dos o más de los ARNm.

30 En un aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es un inhibidor de PDE4 proporcionado en otra parte en el presente documento. En otro aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisoindolin-4-il)acetamida. En otra realización, el compuesto de tratamiento es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.

35 4.3.4 Uso de los ARNm como biomarcadores para supervisar la eficacia o el cumplimiento del paciente

Además de la predicción inicial de la probabilidad de eficacia de un tratamiento en un paciente con psoriasis, el progreso de un tratamiento de la psoriasis se puede controlar mediante la supervisión de los niveles de los ARNm descritos anteriormente. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se proporciona un método para evaluar o supervisar la eficacia de un tratamiento de la psoriasis en un paciente. Se obtiene una muestra del paciente y se miden los niveles de uno o varios de los ARNm descritos anteriormente para determinar si sus niveles aumentan o disminuyen en comparación con los niveles antes de iniciar el tratamiento.

Los biomarcadores también se pueden utilizar para realizar un seguimiento y ajustar la eficacia del tratamiento en un paciente individual. Los biomarcadores se pueden emplear para obtener una información necesaria para realizar ajustes en el tratamiento de un paciente, aumentando o disminuyendo la dosis de un agente según sea necesario. Por ejemplo, un paciente que recibe un compuesto de tratamiento se puede someter a ensayo usando un biomarcador para ver si la dosificación está siendo eficaz o si puede ser necesario un plan de tratamiento más agresivo.

En una realización, se proporciona en este documento un método para supervisar la respuesta de un paciente frente a un tratamiento de la psoriasis que comprende:

50 medir el nivel de un ARNm seleccionado a partir de los ARNm de queratina 16, IL-12/IL-23 p40, IL-23 p19, IL-17A, IL-22, DEFB4, IL-8, MX-1, IL-10, IFN-γ, CXCL9 y una combinación de los mismos, en una primera muestra de piel procedente del paciente;

medir el nivel de un ARNm seleccionado a partir de los ARNm de queratina 16, IL-12/IL-23 p40, IL-23 p19, IL-17A, IL-22, DEFB4, IL-8, MX-1, IL-10, IFN-γ, CXCL9 y una combinación de los mismos, en una segunda muestra de piel

obtenida después de administrar un tratamiento al paciente; y

comparar los niveles del ARNm obtenido a partir de la primera y la segunda muestras de piel;

en donde una disminución del nivel del ARNm en la segunda muestra de piel, indica una respuesta eficaz.

- 5 Los pacientes pueden facilitar la muestra de células a través de cualquier medio deseado, tal como, por ejemplo, una biopsia de la piel. Las muestras se pueden obtener, por ejemplo, todos los días, una vez por semana, dos veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, trimestral o anualmente, según sea necesario para seguir la eficacia del tratamiento. En una realización, los ensayos se llevaron a cabo una vez 4 semanas después del tratamiento y una vez 12 semanas después del tratamiento. Mediante el control de los niveles de estos biomarcadores, se puede supervisar de la eficacia del tratamiento a lo largo del tiempo.
- 10 En una realización, se supervisa el nivel de solo uno de los ARNm. En otra realización, se supervisa simultáneamente los niveles de dos o más de los ARNm.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-12/IL-13 p40 y la disminución es de aproximadamente 80%, 85%, 90% o 95% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-12/IL-13 p40 en la primera muestra de piel.
- 15 En otro aspecto descrito, se supervisa el nivel del ARNm de iNOS y la disminución es de aproximadamente 50%, 55%, 60% o 65% o más en comparación con el nivel del ARNm de iNOS en la primera muestra biológica.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-22 y la disminución es de aproximadamente 65%, 70%, 75% o 80% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-22 en la primera muestra de piel.
- 20 En otra realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-8 y la disminución es de aproximadamente 65%, 70%, 75% o 80% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-8 en la primera muestra de piel.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de DEFB4 y la disminución es de aproximadamente 45%, 50%, 55% o 60% o más en comparación con el nivel del ARNm de DEFB4 en la primera muestra de piel.

En otra realización, se supervisa el nivel del ARNm de MX-1 y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel del ARNm de MX-1 en la primera muestra de piel.
- 25 En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de queratina 16 y la disminución es de aproximadamente 50%, 55%, 60% o 65% o más en comparación con el nivel del ARNm de queratina 16 en la primera muestra de piel.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-17A y la disminución es de aproximadamente 60%, 65%, 70% o 75% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-17A en la primera muestra de piel.
- 30 En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-23 p19 y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-23 p19 en la primera muestra de piel.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-10 y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-10 en la primera muestra de piel.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IFN- γ y la disminución es de aproximadamente 30%, 35%, 40% o 45% o más en comparación con el nivel del ARNm de IFN- γ en la primera muestra de piel.
- 35 En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de CXCL9 y la disminución es de aproximadamente 20%, 25%, 30% o 35% o más en comparación con el nivel del ARNm de CXCL9 en la primera muestra de piel.

En un aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es un inhibidor de PDE4 proporcionado en otra parte en el presente documento. En otro aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida. En otra realización, el compuesto de tratamiento es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.
- 40 En otras realizaciones, estos biomarcadores, además, se pueden utilizar para realizar un seguimiento o realizar un control de calidad en ensayos de investigación en humanos o realizar un seguimiento del cumplimiento del paciente de un régimen de fármacos, al proporcionar un medio para confirmar que el paciente está recibiendo tratamientos específicos con fármacos. Estos biomarcadores se pueden usar en conexión con, por ejemplo, la gestión del tratamiento de un paciente, ensayos clínicos e investigación basada en células.
- 45 En una realización, estos biomarcadores se pueden usar para realizar un seguimiento del cumplimiento del paciente durante regímenes de tratamiento individuales o durante ensayos clínicos. Por ejemplo, los niveles de biomarcadores se pueden controlar a intervalos establecidos durante un ensayo clínico, para asegurar que los pacientes incluidos en el ensayo están tomando los fármacos según las instrucciones. El tratamiento de pacientes individuales tam-
- 50

bién se puede controlar utilizando el procedimiento. Por ejemplo, cuando se mide el nivel de un biomarcador particular, una alteración del nivel del biomarcador en comparación con el de un control no tratado, indica al menos un cumplimiento parcial del paciente con el protocolo de tratamiento con fármacos. Una alteración del nivel del biomarcador que es una cantidad similar a la de un control positivo, indica la probabilidad de un cumplimiento total con el protocolo de tratamiento.

5

Por lo tanto, en algunas realizaciones, se proporciona un método para evaluar el cumplimiento de un paciente de un protocolo de tratamiento con fármacos. Una muestra biológica se obtiene a partir del paciente y los niveles de los biomarcadores se miden y se comparan con los de una muestra de control no tratada. Niveles alterados de los biomarcadores en comparación con los de una muestra de control no tratada, indican el cumplimiento del protocolo.

10 En una realización, se proporciona en este documento un método con un protocolo de tratamiento con fármacos para la psoriasis, que comprende:

medir el nivel de un ARNm seleccionado a partir de un ARNm para la queratina 16, IL-12/IL-23 p40, IL-23 p19, IL-17A, IL-22, DEFB4, IL-8, MX-1, IL-10, IFN- γ , CXCL9 y una combinación de los mismos, en una muestra de piel procedente del paciente; y determinar si el nivel de expresión está disminuido en la muestra de piel en comparación con el nivel de expresión en una muestra de control no tratada;

15

en donde una disminución en la expresión indica el cumplimiento del paciente de dicho protocolo de tratamiento con fármacos.

Los pacientes pueden facilitar la muestra de células a través de cualquier medio deseado, tal como, por ejemplo, una biopsia de la piel. Las muestras se pueden obtener, por ejemplo, todos los días, una vez por semana, dos veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, trimestral o anualmente, según sea necesario para seguir la eficacia del tratamiento. Mediante el control de los niveles de estos biomarcadores, se puede realizar un seguimiento del cumplimiento del paciente a lo largo del tiempo.

20

En una realización, solo se supervisa el nivel de uno de los marcadores celulares. En otra realización, se supervisan simultáneamente los niveles de dos o más de los marcadores celulares.

25 En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-12/IL-13 p40 y la disminución es de aproximadamente 80%, 85%, 90% o 95% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-12/IL-13 p40 en la primera muestra de piel.

En otro aspecto descrito, se supervisa el nivel del ARNm de iNOS y la disminución es de aproximadamente 50%, 55%, 60% o 65% o más en comparación con el nivel del ARNm de iNOS en la primera muestra biológica.

30 En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-22 y la disminución es de aproximadamente 65%, 70%, 75% o 80% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-22 en la primera muestra de piel.

En otra realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-8 y la disminución es de aproximadamente 65%, 70%, 75% o 80% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-8 en la primera muestra de piel.

35 En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de DEFB4 y la disminución es de aproximadamente 45%, 50%, 55% o 60% o más en comparación con el nivel del ARNm de DEFB4 en la primera muestra de piel.

En otra realización, se supervisa el nivel del ARNm de MX-1 y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel del ARNm de MX-1 en la primera muestra de piel.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de queratina 16 y la disminución es de aproximadamente 50%, 55%, 60% o 65% o más en comparación con el nivel del ARNm de queratina 16 en la primera muestra de piel.

40 En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-17A y la disminución es de aproximadamente 60%, 65%, 70% o 75% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-17A en la primera muestra de piel.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-23 p19 y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-23 p19 en la primera muestra de piel.

45 En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IL-10 y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-10 en la primera muestra de piel.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de IFN- γ y la disminución es de aproximadamente 30%, 35%, 40% o 45% o más en comparación con el nivel del ARNm de IFN- γ en la primera muestra de piel.

En una realización, se supervisa el nivel del ARNm de CXCL9 y la disminución es de aproximadamente 20%, 25%, 30% o 35% o más en comparación con el nivel del ARNm de CXCL9 en la primera muestra de piel.

50 En un aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es un inhibidor de PDE4 proporcionado en otra parte en el

presente documento. En otro aspecto descrito, el compuesto de tratamiento es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonyl)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida. En otra realización, el compuesto de tratamiento es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonyl-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.

5 4.4 Moduladores de PDE4

En algunas realizaciones, los biomarcadores proporcionados en este documento se pueden usar para predecir o realizar un seguimiento de la eficacia del tratamiento para la psoriasis mediante un modulador de PDE4. Los moduladores de PDE4 descritos en este documento incluyen moduladores de PDE4 racémicos, estereoméricamente puros y estereoméricamente enriquecidos, compuestos estereomérica y enantioméricamente puros que tienen actividades inhibitorias de citocinas selectivas y sales, solvatos, hidratos, estereoisómeros, clatratos y profármacos de los mismos, farmacéuticamente aceptables. Ciertos compuestos descritos en este documento son conocidos moduladores de PDE4 de Celgene Corporation, NJ.

Tal y como se usa en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, la expresión "moduladores de PDE4" incluye fármacos de moléculas pequeñas, por ejemplo, moléculas orgánicas pequeñas que no son péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, oligosacáridos u otras macromoléculas. Los compuestos preferidos inhiben la producción de TNF- α . Los compuestos también pueden tener un efecto inhibitorio moderado sobre IL-1 β e IL12 inducidas con LPS. Más preferiblemente, los compuestos proporcionados en este documento son inhibidores potentes de PDE 4.

Ejemplos específicos de moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, las imidas cíclicas descritas en los documentos de patente de EE.UU. n° 5.605.914 y 5.463.063; las cicloalquil amidas y cicloalquil nitrilos de los documentos de patente de EE.UU. n° 5.728.844, 5.728.845, 5.968.945, 6.180.644 y 6.518.281; las aril amidas (por ejemplo, N-benzoyl-3-amino-3-(3',4'-dimetoxifenil)-propanamida) de los documentos de patente de EE.UU. n° 5.801.195, 5.736.570, 6.046.221 y 6.284.780; los éteres y alcoholes de imida/amida (por ejemplo, 3-ftalimido-3-(3',4'-dimetoxifenil)propan-1-ol) descritos en el documento de patente de EE.UU. n° 5.703.098; las succinimidas y maleimidas (por ejemplo, 3-(3',4',5',6'-tetrahidroftalimido)-3-(3",4"-dimetoxifenil)propionato de metilo) descritas en el documento de patente de EE.UU. n° 5.658.940; ácidos alcohólicos sustituidos con imido y amido descritos en los documentos de patente de EE.UU. n° 6.214.857 y WO 99/06041; fenetilsulfonas sustituidas descritas en los documentos de patente de EE.UU. n° 6.011.050 y 6.020.358; compuestos de 1,3-dihidro-isoindolilo sustituidos con fluoroalcoxi descritos en el documento de publicación de patente de EE.UU. n° 2004/0204448; imidas sustituidas (por ejemplo, 2-ftalimido-3-(3',4'-dimetoxifenil)propano) descritas en el documento de patente de EE.UU. n° 6.429.221; 1,3,4-oxadiazoles sustituidos (por ejemplo, 2-[1-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-2-(1,3,4-oxadiazol-2-il)etil]-5-metilisoindolin-1,3-diona) descritos en el documento de patente de EE.UU. n° 6.326.388; derivados ciano y carboxi de estirenos sustituidos (por ejemplo, 3,3-bis-(3,4-dimetoxifenil)acrilonitrilo) descritos en los documentos de patente de EE.UU. n° 5.929.117, 6.130.226, 6.262.101 y 6.479.554; isoindolin-1-ona e isoindolin-1,3-diona sustituidas en la posición 2 con un grupo α -(3,4-fenil disustituido)alquilo y en la posición 4 y/o la posición 5 con un grupo que contiene nitrógeno descrito en el documento WO 01/34606 y la patente de EE.UU. n° 6.667.316, por ejemplo, ciclopropil-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonyl)etil]-3-oxoisindolin-4-il}carboxamida, ciclopropil-N-{2-[1(S)-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonyl)etil]-3-oxoisindolin-4-il}carboxamida y ciclopropil-N-{2-[1(R)-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonyl)etil]-3-oxoisindolin-4-il}carboxamida; y ácidos acilhidroxámicos sustituidos con imido y amido (por ejemplo, (3-(1,3-dioxoisindolin-2-il)-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)propanoilamino)propanoato descrito en el documento WO 01/45702 y la patente de EE.UU. n° 6.699.899. Otros moduladores de PDE 4 incluyen compuestos de difeniletileno dados a conocer en el documento de publicación de patente de EE.UU. n° 2005/0014727. Otros moduladores de PDE 4 incluyen compuestos de isoindolina descritos en los documentos de publicación de patente de EE.UU. n° 2006/0025457 y 2006/0084815. Otros moduladores de PDE 4 específicos incluyen 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfonyl]etil-4-acetilaminoisoindolin-1,3-diona y estereoisómeros de la misma. (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfonyl]etil-4-acetilaminoisoindolin-1,3-diona se describe en el documento WO 03/080049.

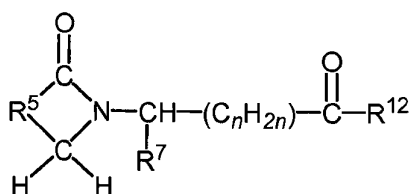
Moduladores de PDE 4 adicionales pertenecen a una familia de compuestos químicos sintetizados cuyos ejemplos típicos incluyen 3-(1,3-dioxobenzo-[f]isoindol-2-il)-3-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)propionamida y 3-(1,3-dioxo-4-azaisoindol-2-il)-3-(3,4-dimetoxifenil)-propionamida.

Varios moduladores de PDE4 descritos en este documento contienen uno o varios centros quirales y pueden existir como mezclas racémicas de enantiómeros o mezclas de diastereómeros. Los métodos y composiciones de este documento incluyen el uso de formas estereoméricamente puras de tales compuestos, así como el uso de mezclas de esas formas. Por ejemplo, mezclas que comprenden cantidades desiguales de los enantiómeros de un modulador de PDE4 particular, se pueden utilizar en los métodos y composiciones proporcionados en el presente documento. Estos isómeros se pueden sintetizar asimétricamente o realizar una resolución usando técnicas convencionales, tales como columnas quirales o agentes de resolución quiral. Véase, por ejemplo, Jacques, J., et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., et al., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); y Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

Tal y como se usa en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, la expresión "ópticamente pura"

significa una composición que comprende un isómero óptico de un compuesto y que está sustancialmente exenta de otros isómeros de ese compuesto. Por ejemplo, una composición ópticamente pura de un compuesto que tiene un centro quiral estará sustancialmente exenta del enantiómero opuesto del compuesto. Una composición ópticamente pura de un compuesto que tiene dos centros quirales estará sustancialmente exenta de otros diastereómeros del compuesto. Un compuesto ópticamente puro típico comprende más de aproximadamente 80% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 20% en peso de otros enantiómeros del compuesto, más de aproximadamente 90% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 10% en peso de los otros enantiómeros del compuesto, más de aproximadamente 95% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 5% en peso de los otros enantiómeros del compuesto, más de aproximadamente 97% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 3% en peso de los otros enantiómeros del compuesto, o más de aproximadamente 99% en peso de un enantiómero del compuesto y menos de aproximadamente 1% en peso de los otros enantiómeros del compuesto.

Ciertos moduladores de PDE4 específicos pertenecen a una clase de amidas cíclicas no polipeptídicas descritas en los documentos de patente de EE.UU. n.º 5.698.579, 5.877.200, 6.075.041 y 6.200.987 y WO 95/01348. Las amidas cíclicas representativas incluyen compuestos de la fórmula:

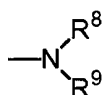


en donde n tiene un valor de 1, 2 o 3;

R⁵ es o-fenileno, no sustituido o sustituido con 1 a 4 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilamino, dialquilamino, acilamino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono y halo;

R⁷ es (i) fenilo o fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionados cada uno independientemente del otro a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono y halo, (ii) bencilo no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono y halo, (iii) naftilo y (iv) benciloxi;

R¹² es -OH, alcoxi de 1 a 12 átomos de carbono, o



R⁸ es hidrógeno o alquilo de 1 a 10 átomos de carbono; y

R⁹ es hidrógeno, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, -COR¹⁰ o -SO₂R¹⁰, en donde R¹⁰ es hidrógeno, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono o fenilo.

Los compuestos específicos de esta clase incluyen, pero no están limitados a:

ácido 3-fenil-2-(1-oxoisindolin-2-il)propiónico;

3-fenil-2-(1-oxoisindolin-2-il)propionamida;

ácido 3-fenil-3-(1-oxoisindolin-2-il)propiónico;

3-fenil-3-(1-oxoisindolin-2-il)propionamida;

ácido 3-(4-metoxifenil)-3-(1-oxoisindolin-il)propiónico;

3-(4-metoxifenil)-3-(1-oxoisindolin-il)propionamida;

ácido 3-(3,4-dimetoxifenil)-3-(1-oxoisindolin-2-il)propiónico;

3-(3,4-dimetoxi-fenil)-3-(1-oxo-1,3-dihidroisindol-2-il)propionamida;

3-(3,4-dimetoxifenil)-3-(1-oxoisoindolin-2-il)propionamida;

ácido 3-(3,4-dietoxifenil)-3-(1-oxoisoindolin-il)propiónico;

3-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)propionato de metilo;

ácido 3-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)propiónico;

5 ácido 3-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-(3-propoxi-4-metoxifenil)propiónico;

ácido 3-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-(3-butoxi-4-metoxifenil)propiónico;

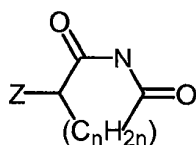
3-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-(3-propoxi-4-metoxifenil)propionamida;

3-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-(3-butoxi-4-metoxifenil)propionamida;

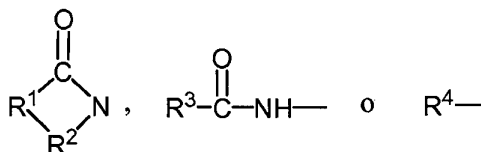
3-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-(3-butoxi-4-metoxifenil)propionato de metilo; y

10 3-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-(3-propoxi-4-metoxifenil)propionato de metilo.

Otros moduladores de PDE4 representativos incluyen compuestos de fórmula:



en la que Z es:



15 en la que:

R¹ es el residuo divalente de (i) 3,4-piridina, (ii) pirrolidina, (iii) imidazol, (iv) naftaleno, (v) tiofeno o (vi) un alcano lineal o ramificado de 2 a 6 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con fenilo o fenilo sustituido con nitro, ciano, trifluorometilo, carboxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo, en donde los enlaces divalentes de dicho residuo están en átomos de carbono del anillo adyacente;

20

R² es -CO- o -SO₂-;

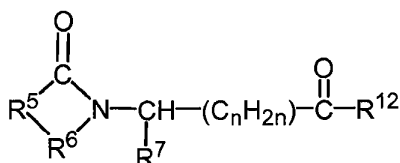
R³ es (i) fenilo sustituido con 1 a 3 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carboxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo, (ii) piridilo, (iii) pirrolilo, (iv) imidazolilo, (v) naftilo, (vi) tienilo, (vii) quinolilo, (viii) furilo o (ix) indolilo;

25

R⁴ es alanilo, arginilo, glicilo, fenilglicilo, histidilo, leucilo, isoleucilo, lisilo, metionilo, prolilo, sarcosilo, serilo, homoserilo, treonilo, tironilo, tirosilo, valilo, bencimidol-2-ilo, benzoxazol-2-ilo, fenilsulfonilo, metilfenilsulfonilo o fenilcarbamoilo; y

n tiene un valor de 1, 2 o 3.

30 Otras amidas cíclicas representativas incluyen compuestos de fórmula:



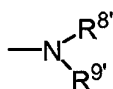
en donde:

R⁵ es (i) o-fenileno, no sustituido o sustituido con 1 a 4 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidrox, amino, alquilamino, dialquilamino, acilamino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo o (ii) el residuo divalente de piridina, pirrolidina, imidazol, naftaleno o tiofeno, en donde los enlaces divalentes están en átomos de carbono del anillo adyacente;

R⁶ es -CO-, -CH₂- o -SO₂-;

R⁷ es (i) hidrógeno si R⁶ es -SO₂-, (ii) alquilo lineal, ramificado o cíclico de 1 a 12 átomos de carbono, (iii) piridilo, (iv) fenilo o fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro, a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidrox, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo, (v) alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, (vi) bencilo no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidrox, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo, (vii) naftilo, (viii) benciloxi o (ix) imidazol-4-ilmetilo;

R¹² es -OH, alcoxi de 1 a 12 átomos de carbono, o

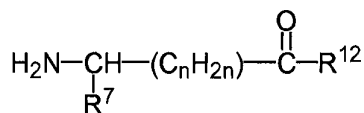


n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3;

R⁸ es hidrógeno o alquilo de 1 a 10 átomos de carbono; y

R⁹ es hidrógeno, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, -COR¹⁰ o -SO₂R¹⁰ en donde R¹⁰ es hidrógeno, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono o fenilo.

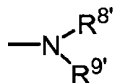
Otras imidas representativas incluyen compuestos de fórmula:



en donde:

R⁷ es (i) alquilo lineal, ramificado o cíclico de 1 a 12 átomos de carbono, (ii) piridilo, (iii) fenilo o fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro, a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidrox, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo, (iv) bencilo no sustituido o sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidrox, amino, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo, (v) naftilo, (vi) benciloxi o (vii) imidazol-4-ilmetilo;

R¹² es -OH, alcoxi de 1 a 12 átomos de carbono, -O-CH₂-piridilo, -O-bencilo o

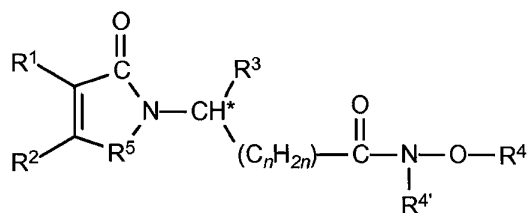


en donde n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3;

R⁸ es hidrógeno o alquilo de 1 a 10 átomos de carbono; y

R⁹ es hidrógeno, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, -CH₂-piridilo, bencilo, -COR¹⁰ o -SO₂R¹⁰ en donde R¹⁰ es hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono o fenilo.

Otros moduladores de PDE4 específicos incluyen los ácidos alcanohidroxámicos sustituidos con imido y amido dados a conocer en el documento WO 99/06041 y la patente de EE.UU. nº 6.214.857. Ejemplos de tal compuesto incluyen, pero no se limitan a:



en donde:

cada uno de R^1 y R^2 , cuando se toman independientemente uno de otro, es hidrógeno, alquilo inferior, o R^1 y R^2 , cuando se toman junto con los átomos de carbono representados a los que están unidos cada uno, son *o*-fenileno, *o*-naftileno o ciclohexen-1,2-diilo, sin sustituir o sustituido con 1 a 4 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilamino, dialquilamino, acilamino, alquilo de 1 a 10 de átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono y halo;

R^3 es fenilo sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, alquiltio de 1 a 10 átomos de carbono, benciloxi, cicloalcoxi de 3 a 6 átomos de carbono, cicloalquilidenmetilo C_4-C_6 , alquilidenmetilo C_3-C_{10} , indaniloxi y halo;

R^4 es hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, fenilo o bencilo;

$R^{4'}$ es hidrógeno o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

R^5 es $-CH_2-$, $-CH_2-CO-$, $-SO_2-$, $-S-$ o $-NHCO-$; y

n tiene un valor de 0, 1 o 2; o

una sal de adición de ácido de dichos compuestos.

Moduladores de PDE4 específicos adicionales, proporcionados en este documento incluyen, pero no se limitan a:

3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-(1-oxoisoindolinil)propionamida;

3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N-metoxi-3-(1-oxoisoindolinil)propionamida;

N-benciloxi-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-ftalimidopropionamida;

N-benciloxi-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-(3-nitroftalimido)propionamida;

N-benciloxi-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-(1-oxoisoindolinil)propionamida;

3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-ftalimidopropionamida;

N-hidroxi-3-(3,4-dimetoxifenil)-3-ftalimidopropionamida;

3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-(3-nitroftalimido)propionamida;

N-hidroxi-3-(3,4-dimetoxifenil)-3-(1-oxoisoindolinil)propionamida;

3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-(4-metil-ftalimido)propionamida;

3-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-ftalimidopropionamida;

3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-(1,3-dioxo-2, 3-dihidro-1H-benzo [f]isoindol-2-il)propionamida;

N-hidroxi-3-{3-(2-propoxi)-4-metoxifenil}-3-ftalimidopropionamida;

3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-(3,6-difluoroftalimido)-N-hidroxi-3-ftalimidopropionamida;

3-(4-aminoftalimido)-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-ftalimidopropionamida;

3-(3-aminoftalimido)-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-ftalimidopropionamida;

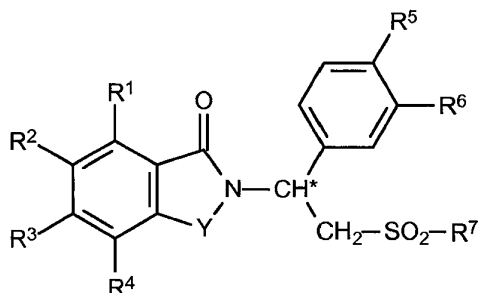
3-(3-acetoamidoftalimido)-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-ftalimidopropionamida;

N-hidroxi-3-(3,4-dimetoxifenil)-3-(1-oxoisoindolinil)propionamida;

3-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-N-hidroxi-3-(1-oxoisindolinil)propionamida; y

N-benciloxi-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-(3-nitroftalimido)propionamida.

Moduladores de PDE 4 adicionales proporcionados en este documento incluyen las fenetilsulfonas sustituidas en el grupo fenetilo con un grupo oxoisindolino. Ejemplos de tales compuestos incluyen, pero no se limitan a los descritos el documento de patente de EE.UU. n° 6.020.358, que incluyen el siguiente:



en donde el átomo de carbono designado * constituye un centro de quiralidad;

Y es C=O, CH₂, SO₂ o CH₂C=O; cada uno de R¹, R², R³ y R⁴, independientemente de los otros, es hidrógeno, halo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, nitro, ciano, hidroxilo o -NR⁸R⁹; o dos cualesquiera entre R¹, R², R³ y R⁴ en átomos de carbono adyacentes, junto con el anillo de fenileno descrito son naftileno;

cada uno de R⁵ y R⁶, independientemente uno del otro, es hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, ciano o cicloalcoxi de hasta 18 átomos de carbono;

R⁷ es hidroxilo, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, fenilo, bencilo o NR⁸R⁹;

cada uno de R⁸ y R⁹ tomado independientemente uno del otro, es hidrógeno, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, fenilo o bencilo, o uno de R⁸ y R⁹ es hidrógeno y el otro es -COR¹⁰ o -SO₂R¹⁰, o R⁸ y R⁹ juntos son tetrametileno, pentametileno, hexametileno, o -CH₂CH₂X¹CH₂CH₂- en donde X¹ es -O-, -S- o -NH-; y

cada uno de R⁸ y R⁹ tomado independientemente uno del otro, es hidrógeno, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, fenilo o bencilo, o uno de R⁸ y R⁹ es hidrógeno y el otro es -COR¹⁰ o -SO₂R¹⁰, o R⁸ y R⁹ juntos son tetrametileno, pentametileno, hexametileno, o -CH₂CH₂X²CH₂CH₂- en donde X² es -O-, -S- o -NH-.

Se apreciará que aunque por conveniencia los compuestos anteriores se identifican como fenetilsulfonas, incluyen sulfonamidas cuando R⁷ es NR⁸R⁹.

Los grupos específicos de tales compuestos son aquellos en los que Y es C=O o CH₂.

Un grupo específico adicional de tales compuestos es aquel en el que cada uno de R¹, R², R³ y R⁴ independientemente de los otros, es hidrógeno, halo, metilo, etilo, metoxi, etoxi, nitro, ciano, hidroxilo, o -NR⁸R⁹ en donde cada uno de R⁸ y R⁹ tomado independientemente del otro es hidrógeno o metilo, o uno de R⁸ y R⁹ es hidrógeno y el otro es -COCH₃.

Los compuestos particulares son aquellos en los que uno de R¹, R², R³ y R⁴ es -NH₂ y el resto de R¹, R², R³ y R⁴ es hidrógeno.

Los compuestos particulares son aquellos en los que uno de R¹, R², R³ y R⁴ es -NHCOCH₃ y el resto de R¹, R², R³ y R⁴ es hidrógeno.

Los compuestos particulares son aquellos en los que uno de R¹, R², R³ y R⁴ es -N(CH₃)₂ y el resto de R¹, R², R³ y R⁴ es hidrógeno.

Un grupo preferido de tales compuestos es aquel en el que uno de R¹, R², R³ y R⁴ es metilo y el resto de R¹, R², R³ y R⁴ es hidrógeno.

Los compuestos particulares son aquellos en los que uno de R¹, R², R³ y R⁴ es fluoro y el resto de R¹, R², R³ y R⁴ es hidrógeno.

Los compuestos particulares son aquellos en los que cada uno de R⁵ y R⁶, independientemente del otro, es hidrógeno, metilo, etilo, propilo, metoxi, etoxi, propoxi, ciclopentoxi o ciclohexoxi.

Los compuestos particulares son aquellos en los que R⁵ es metoxi y R⁶ es monocicloalcoxi, policicloalcoxi y benzocicloalcoxi.

Los compuestos particulares son aquellos en los que R⁵ es metoxi y R⁶ es etoxi.

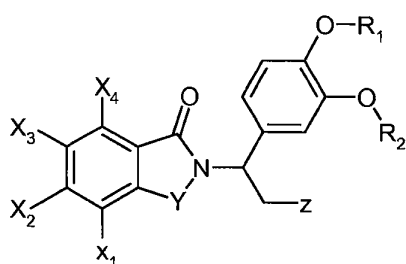
Los compuestos particulares son aquellos en los que R⁷ es hidroxilo, metilo, etilo, fenilo, bencilo o NR⁸R⁹ en donde cada uno de R⁸ y R⁹ tomado independientemente del otro, es hidrógeno o metilo.

- 5 Los compuestos particulares son aquellos en los que R⁷ es metilo, etilo, fenilo, bencilo o NR⁸R⁹ en donde cada uno de R⁸ y R⁹ tomado independientemente del otro, es hidrógeno o metilo.

Los compuestos particulares son aquellos en los que R⁷ es metilo.

Los compuestos particulares son aquellos en los que R⁷ es NR⁸R⁹ en donde cada uno de R⁸ y R⁹ tomado independientemente del otro, es hidrógeno o metilo.

- 10 Los moduladores de PDE4 adicionales incluyen compuestos de 1,3-dihidro-isoindolilo sustituidos con fluoroalcoxi descritos en el documento de publicación de patente de EE.UU. n° 2004/0204448. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



en donde:

Y es -C(O)-, -CH₂-, -CH₂C(O)-, -C(O)CH₂- o SO₂;

- 15 Z es -H-, -C(O)R³-, -(alquil-C₀₋₁)-SO₂-(alquilo-C₁₋₄)-, -alquilo-C₁₋₈-, -CH₂OH, CH₂(O)(alquilo-C₁₋₈) o -CN;

R₁ y R₂ son cada uno independientemente -CHF₂-, -alquilo-C₁₋₈-, -cicloalquilo-C₃₋₁₈ o -(alquil-C₁₋₁₀)(cicloalquilo-C₃₋₁₈) y al menos uno de R₁ y R₂ es CHF₂;

R³ es -NR⁴R⁵-, -alquilo-, -OH-, -O-alquilo, fenilo, bencilo, fenilo sustituido o bencilo sustituido;

R⁴ y R⁵ son cada uno independientemente -H-, -alquilo-C₁₋₈-, -OH-, -OC(O)R⁶;

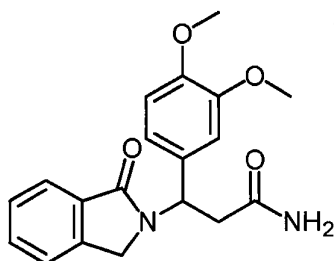
- 20 R⁶ es -alquilo-C₁₋₈-, -amino(alquilo-C₁₋₈)-, -fenilo-, -bencilo o -arilo;

X₁, X₂, X₃ y X₄ son cada uno independientemente -H-, -halógeno-, -nitro-, -NH₂-, -CF₃-, -alquilo-C₁₋₆-, -(alquil-C₀₋₄)-(cicloalquilo-C₃₋₆), (alquil-C₀₋₄)-NR⁷R⁸-, (alquil-C₀₋₄)-N(H)C(O)-(R⁸), (alquil-C₀₋₄)-N(H)C(O)N(R⁷R⁸), (alquil-C₀₋₄)-N(H)C(O)O(R⁷R⁸), (alquil-C₀₋₄)-OR⁸-, (alquil-C₀₋₄)imidazolilo, (alquil-C₀₋₄)pirrolilo, (alquil-C₀₋₄)oxadiazolilo o (alquil-C₀₋₄)triazolilo o dos de X₁, X₂, X₃ y X₄ se pueden unir entre sí para formar un anillo cicloalquilo o heterocicloalquilo, (por ejemplo, X₁ y X₂, X₂ y X₃, X₃ y X₄, X₁ y X₃, X₂ y X₄ o X₁ y X₄ pueden formar un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros que puede ser aromático, formando de este modo un sistema bicíclico con el anillo de isoindolilo); y

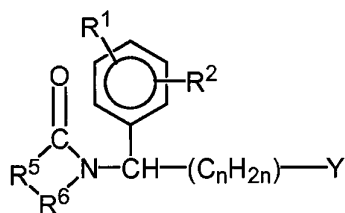
- 25 R⁷ y R⁸ cada uno independientemente, es H, alquilo-C₁₋₉-, cicloalquilo-C₃₋₆-, (alquil-C₁₋₆)-(cicloalquilo-C₃₋₆), (alquil-C₁₋₆)-N(R⁷R⁸), (alquil-C₁₋₆)-OR⁸-, fenilo, bencilo o arilo; o una sal, solvato, hidrato, estereoisómero, clatrato o profármaco de los mismos farmacéuticamente aceptable.

- 30 Los moduladores de PDE4 adicionales incluyen los compuestos enantioméricamente puros descritos en los documentos de publicación de patente de EE.UU. n° 2003/0187052, 2004/0167199 y 2005/0014727 y las publicaciones de patentes internacionales n° WO 2003/080048 y WO 2003.080049. En un aspecto descrito, el compuesto es un enantiómero de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-4-acetilaminoisoindolin-1,3-diona y un enantiómero de 3-(3,4-dimetoxi-fenil)-3-(1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-propionamida.

- 35 En algunas realizaciones, el modulador de PDE4 es {2-[1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico, disponible en Celgene Corp., Warren, NJ. 3-(3,4-dimetoxi-fenil)-3-(1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-propionamida tiene la siguiente estructura química:



Otros moduladores de PDE4 incluyen, pero no se limitan a, cicloalquil amidas y cicloalquil nitrilos descritos en los documentos de patente de EE.UU. n° 5.728.844, 5.728.845, 5.968.945, 6.180.644 y 6.518.281, y WO 97/08143 y WO 97/23457. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



5

en donde:

uno de R¹ y R² es R³-X- y el otro es hidrógeno, nitro, ciano, trifluorometilo, carboalcoxi (inferior), acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilamino inferior, acilamino inferior o alcoxi inferior; halo o R³-X-;

R³ es monocicloalquilo, bicicloalquilo o benzocicloalquilo de hasta 18 átomos de carbono;

10 X es un enlace carbono-carbono, -CH₂- u -O-;

R⁵ es (i) o-fenileno, no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, halo, trifluorometilo, carboalcoxi (inferior), acetilo o carbamoilo, no sustituido o sustituido con alquilo inferior, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilamino inferior, acilamino inferior o alcoxi inferior; (ii) un residuo divalente adyacente de piridina, pirrolidina, imidazol, naftaleno o tiofeno, en donde los enlaces divalentes están en átomos de carbono del anillo adyacente; (iii) un cicloalquilo divalente de forma adyacente o cicloalqueno de 4-10 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, halo, trifluorometilo, carboalcoxi (inferior), acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilamino inferior, alquilo inferior, alcoxi inferior o fenilo; (iv) vinileno disustituido con alquilo inferior; o (v) etileno, no sustituido o monosustituido o disustituido con alquilo inferior;

20 R⁶ es -CO-, -CH₂- o -CH₂CO-;

Y es -COZ, -C≡N, -OR⁸, alquilo inferior o arilo;

Z es -NH₂, -OH, -NHR, -R⁹ u -OR⁹

R⁸ es hidrógeno o alquilo inferior;

R⁹ es alquilo inferior o bencilo; y,

25 n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3.

En un aspecto descrito, uno de R¹ y R² es R³-X- y el otro es hidrógeno, nitro, ciano, trifluorometilo, carboalcoxi (inferior), acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilo inferior, alcoxi inferior, halo o R³-X-;

R³ es monocicloalquilo de hasta 10 átomos de carbono, policicloalquilo de hasta 10 átomos de carbono o alquilo benzocíclico de hasta 10 átomos de carbono;

30 X es -CH₂- u -O-;

R⁵ es (i) el residuo divalente adyacente de piridina, pirrolidina, imidazol, naftaleno o tiofeno, en donde los dos enlaces del residuo divalente están en átomos de carbono del anillo adyacente;

(ii) un cicloalquilo divalente adyacente de 4-10 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, halo, trifluorometilo, car-

betoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o fenilo;

(iii) vinileno disustituido, sustituido con nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, carbamoilo sustituido con un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido con un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo;

(iv) etileno, no sustituido o sustituido con 1 a 2 sustituyentes seleccionado cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, carbamoilo sustituido con un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido con un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo;

R^6 es $-CO-$, $-CH_2-$ o $-CH_2CO-$;

Y es $-COX$, $-C\equiv N$, $-OR^8$, alquilo de 1 a 5 átomos de carbono o arilo;

X es $-NH_2$, $-OH$, $-NHR$, $-R^9$, $-OR^9$ o alquilo de 1 a 5 átomos de carbono;

R^8 es hidrógeno o alquilo inferior;

R^9 es alquilo o bencilo; y,

n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3.

En otro aspecto descrito, uno de R^1 y R^2 es R^3-X- y el otro es hidrógeno, nitro, ciano, trifluorometilo, carboalcoxi (inferior), acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilo inferior, alcoxi inferior, halo, HF_2CO , F_3CO o R^3-X- ;

R^3 es monocicloalquilo, bicicloalquilo, benzocicloalquilo de hasta 18 átomos de carbono, tetrahidropirano o tetrahidrofurano;

X es un enlace carbono-carbono, $-CH_2-$, $-O-$ o $-N=$;

R^5 es (i) o-fenileno, no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes, seleccionados cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, halo, trifluorometilo, carboalcoxi (inferior), acetilo o carbamoilo, no sustituido o sustituido con alquilo inferior, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilamino inferior, acilamino inferior o alcoxi inferior; (ii) un residuo divalente adyacente de piridina, pirrolidina, imidazol, naftaleno o tiofeno, en donde los enlaces divalentes están en átomos de carbono del anillo adyacente; (iii) un cicloalquilo divalente adyacente o cicloalqueno de 4-10 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con 1 o más sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, halo, trifluorometilo, carboalcoxi (inferior), acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilamino inferior, alquilo inferior, alcoxi inferior o fenilo; (iv) vinileno disustituido con alquilo inferior; o (v) etileno, no sustituido o monosustituido o disustituido con alquilo inferior;

R^6 es $-CO-$, $-CH_2-$ o $-CH_2CO-$;

Y es $-COX$, $-C\equiv N$, $-OR^8$, alquilo de 1 a 5 átomos de carbono o arilo;

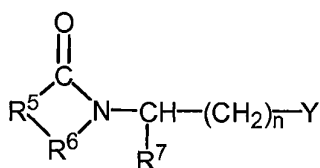
X es $-NH_2$, $-OH$, $-NHR$, $-R^9$, $-OR^9$ o alquilo de 1 a 5 átomos de carbono;

R^8 es hidrógeno o alquilo inferior;

R^9 es alquilo o bencilo; y,

n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3.

Otros compuestos representativos tienen la fórmula:



en donde:

Y es $-C\equiv N$ o $CO(CH_2)_mCH_3$;

m es 0, 1, 2 o 3;

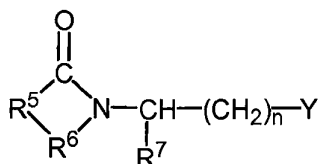
R⁵ es (i) o-fenileno, no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, carbamoilo sustituido con y alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, amino sustituido con un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo; (ii) el residuo divalente de piridina, pirrolidina, imidazol, naftaleno o tiofeno, en donde los enlaces divalentes están en átomos de carbono del anillo adyacente; (iii) un cicloalquilo divalente de 4-10 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente de otro a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, fenilo o halo; (iv) vinileno disustituido, sustituido con nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, carbamoilo sustituido con y alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, amino sustituido con un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo; o (v) etileno, no sustituido o sustituido con 1 a 2 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, carbamoilo sustituido con y alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, amino sustituido con un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, o halo

R⁶ es -CO-, -CH₂-, -CH₂CO- o -SO₂-;

R⁷ es (i) alquilo lineal o ramificado de 1 a 12 átomos de carbono; (ii) alquilo cíclico o bicíclico de 1 a 12 átomos de carbono; (iii) piridilo; (iv) fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, alquilo lineal, ramificado, cíclico o bicíclico de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi lineal, ramificado, cíclico o bicíclico de 1 a 10 átomos de carbono, CH₂R en donde R es un alquilo cíclico o bicíclico de 1 a 10 átomos de carbono o halo; (v) bencilo sustituido con uno a tres sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo; (vi) naftilo; o (vii) benciloxi; y

n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3.

En otro aspecto descrito, los moduladores de PDE 4 tienen la fórmula:



en donde:

R⁵ es (i) el residuo divalente de piridina, pirrolidina, imidazol, naftaleno o tiofeno, en donde los enlaces divalentes están en átomos de carbono del anillo adyacente; (ii) un cicloalquilo divalente de 4-10 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, fenilo o halo; (iii) vinileno disustituido, sustituido con nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, carbamoilo sustituido con y alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, amino sustituido con un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo; o (iv) etileno, no sustituido o sustituido con 1 a 2 sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, carbamoilo sustituido con y alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, amino sustituido con un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo;

R⁶ es -CO-, -CH₂-, -CH₂CO- o -SO₂-;

R⁷ es (i) alquilo cíclico o bicíclico de 4 a 12 átomos de carbono; (ii) piridilo; (iii) fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono lineal, ramificado, cíclico o bicíclico, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono lineal, ramificado, cíclico o bicíclico, CH₂R en donde R es un alquilo cíclico o bicíclico de 1 a 10 átomos de carbono o halo; (iv) bencilo sustituido con uno a tres sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxí, amino, alquilo de 1 a 4 áto-

mos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo; (v) naftilo; o (vi) benciloxi; e

Y es COX, $-C\equiv N$, OR^8 , alquilo de 1 a 5 átomos de carbono o arilo;

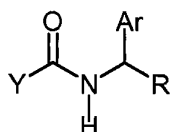
X es $-NH_2$, $-OH$, $-NHR$, $-R^9$, $-OR^9$ o alquilo de 1 a 5 átomos de carbono;

R^8 es hidrógeno o alquilo inferior;

5 R^9 es alquilo o bencilo; y

n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3.

Otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, las amidas de arilo (por ejemplo, siendo un ejemplo, N-benzoil-3-amino-3-(3',4'-dimetoxifenil)propanamida) descrita en los documentos de patente de EE.UU. nº 5.801.195, 5.736.570, 6.046.221 y 6.284.780. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



10

en donde:

Ar es (i) alquilo no sustituido de 1 a 12 átomos de carbono lineal, ramificado o cíclico; (ii) alquilo sustituido de 1 a 12 átomos de carbono lineal, ramificado o cíclico; (iii) fenilo; (iv) fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo; (v) heterociclo; o (vi) heterociclo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo;

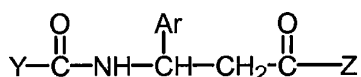
15

R es $-H$, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, CH_2OH , CH_2CH_2OH o CH_2COZ , en donde Z es alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, benciloxi o NHR^1 , en donde R^1 es H o alquilo de 1 a 10 átomos de carbono; e

20

Y es i) un anillo fenilo o heterocíclico, no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo o ii) naftilo. Ejemplos específicos de los compuestos tienen la fórmula:

25



en donde:

Ar es fenilo disustituido en 3,4, en donde cada sustituyente se selecciona independientemente del otro a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono y halo;

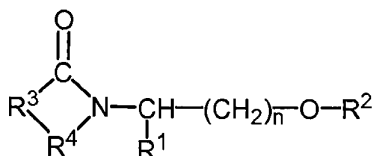
30

Z es alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, benciloxi, amino o alquilamino de 1 a 10 átomos de carbono; e

Y es (i) un fenilo, no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro, a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono y halo o (ii) naftilo.

35

Otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, los éteres y alcoholes de imida/amida (por ejemplo, 3-ftalimido-3-(3',4'-dimetoxifenil)propan-1-ol) descritos en el documento de patente de EE.UU. nº 5.703.098. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



en donde:

R¹ es (i) alquilo no sustituido de 1 a 12 átomos de carbono lineal, ramificado o cíclico; (ii) alquilo sustituido de 1 a 12 átomos de carbono lineal, ramificado o cíclico; (iii) fenilo; o (iv) fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, acilamino, alquilamino, di(alquil) amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, bicicloalquilo de 5 a 12 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, cicloalcoxi de 3 a 10 átomos de carbono, bicicloalcoxi de 5 a 12 átomos de carbono y halo;

R² es hidrógeno, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, bencilo, piridilmetilo o alcoximetilo;

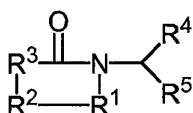
R³ es (i) etileno, (ii) vinileno, (iii) un alquilenno ramificado de 3 a 10 átomos de carbono, (iv) un alquenileno ramificado de 3 a 10 átomos de carbono, (v) cicloalquileno de 4 a 9 átomos de carbono no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido con alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, amino sustituido con acilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 12 átomos de carbono y halo, (vi) cicloalquenileno de 4 a 9 átomos de carbono no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido con alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, amino sustituido con acilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 12 átomos de carbono y halo, (vii) o-fenileno no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, acetoxi, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido con alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, amino sustituido con acilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 12 átomos de carbono y halo, (viii) naftilo, o (ix) piridilo;

R⁴ es -CX-, -CH₂- o -CH₂CX-;

X es O o S; y

n es 0, 1, 2 o 3.

Otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, las succinimidas y maleimidas (por ejemplo, 3-(3',4',5',6'-tetrahidroftalimido)-3-(3'',4''-dimetoxifenil)propionato) de metilo) descritas en el documento de patente de EE.UU. n° 5.658.940. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



en donde:

R¹ es -CH₂-, -CH₂CO- o -CO-;

R² y R³ tomados juntos son (i) etileno no sustituido o sustituido con alquilo de 1-10 átomos de carbono o fenilo, (ii) vinileno sustituido con dos sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro, a partir del grupo que consiste en alquilo de 1-10 átomos de carbono y fenilo o (iii) un cicloalquilo divalente de 5-10 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo no sustituido o sustituido con alquilo de 1-3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, norbornilo, fenilo o halo;

R⁴ es (i) alquilo no sustituido lineal o ramificado de 4 a 8 átomos de carbono, (ii) cicloalquilo o bicicloalquilo de 5-10 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir del grupo que consiste de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo ramificado, lineal o cíclico de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, fenilo o halo, (iii) fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, cicloalquilo o bicicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalcoxi o bicicloalcoxi de 3 a 10 átomos de carbono, fenilo o halo, (iv) piridina o pirrolidina, no sustituida o sustituida con uno o varios sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente del otro a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo,

acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, fenilo o halo; y,

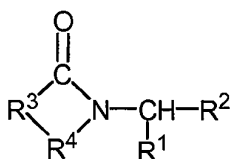
R^5 es -COX, -CN, -CH₂COX, alquilo de 1 a 5 átomos de carbono, arilo, -CH₂OR, -CH₂ o -CH₂OH,

en donde X es NH₂, OH, NHR u OR⁶,

5 en donde R es alquilo inferior; y

en donde R⁶ es alquilo o bencilo.

Otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, imidas sustituidas (por ejemplo, 2-ftalimido-3-(3',4'-dimetoxifenil)propano) descritas en el documento de patente de EE.UU. n° 6.429.221. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



10

en donde:

R¹ es (i) alquilo lineal, ramificado o cíclico de 1 a 12 átomos de carbono, (ii) fenilo o fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilo lineal o ramificado de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo, (iii) bencilo o bencilo sustituido con uno o varios sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente del otro a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo, o (iv) -Y-Ph, en donde Y es un alquilo lineal, ramificado o cíclico de 1 a 12 átomos de carbono y Ph es fenilo o fenilo sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente del otro a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o halo;

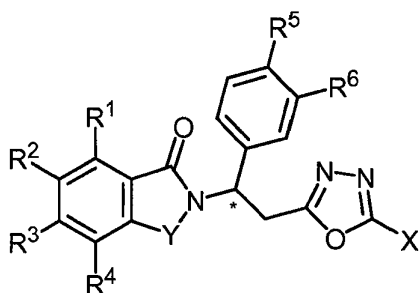
R² es -H, un alquilo ramificado o no ramificado de 1 a 10 átomos de carbono, fenilo, piridilo, heterociclo, -CH₂-arilo o -CH₂-heterociclo;

R³ es i) etileno, ii) vinileno, iii) un alquilenno ramificado de 3 a 10 átomos de carbono, iv) un alquenileno ramificado de 3 a 10 átomos de carbono, v) cicloalquilenno de 4 a 9 átomos de carbono no sustituido o sustituido con 1 a 2 sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo, vi) cicloalquenileno de 4 a 9 átomos de carbono no sustituido o sustituido con 1 a 2 cada uno seleccionado independientemente a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 to 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo, o vii) o-fenileno no sustituido o sustituido con 1 a 2 sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente a partir de nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono o halo; y,

R⁴ es -CX o -CH₂-;

X es O o S.

Otros moduladores de PDE4 incluyen, pero no se limitan a, oxadiazoles sustituidos en 1,3,4 (por ejemplo, 2-[1-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-2-(1,3,4-oxadiazol-2-il)etil]-5-metilisoindolin-1,3-diona) descritos en el documento de patente de EE.UU. n° 6.326.388. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



en donde:

el átomo de carbono señalado con * constituye un centro de quiralidad;

Y es C=O, CH₂, SO₂ o CH₂C=O;

5 X es hidrógeno o alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

cada uno de R¹, R², R³ y R⁴, independientemente de los otros, es hidrógeno, halo, trifluorometilo, acetilo, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, nitro, ciano, hidroxilo, -CH₂NR⁸R⁹, -(CH₂)₂NR⁸R⁹ o -NR⁸R⁹ o dos cualesquiera de R¹, R², R³ y R⁴ en átomos de carbono adyacentes, junto con el anillo de benceno representado son naftilideno, quinolina, quinoxalina, bencimidazol, benzodioxol o 2-hidroxibencimidazol;

10 cada uno de R⁵ y R⁶, independientemente del otro, es hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, ciano, benzocicloalcoxi, cicloalcoxi de hasta 18 átomos de carbono, bicicloalcoxi de hasta 18 carbonos átomos, tricicloalcoxi de hasta 18 átomos de carbono o cicloalquilalcoxi de hasta 18 átomos de carbono;

cada uno de R⁸ y R⁹, tomado independientemente uno del otro, es hidrógeno, alquilo lineal o ramificado de 1 a 8 átomos de carbono, fenilo, bencilo, piridilo, piridilmetilo o uno de R⁸ y R⁹ es hidrógeno y el otro es -COR¹⁰ o -SO₂R¹⁰, o R⁸ y R⁹ tomados juntos son tetrametileno, pentametileno, hexametileno, -CH=NCH=CH- o -CH₂CH₂X¹CH₂CH₂- en donde X¹ es -O-, -S- o -NH-,

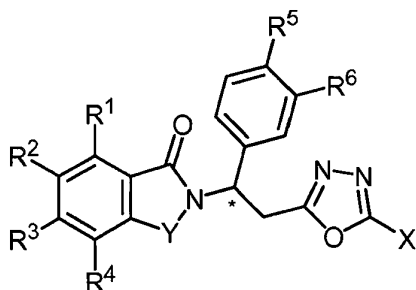
15 R¹⁰ es hidrógeno, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, cicloalquilo, cicloalquilmetilo de hasta 6 átomos de carbono, fenilo, piridilo, bencilo, imidazolilmetilo, piridilmetilo, NR¹¹R¹², CH₂R¹⁴R¹⁵ o NR¹¹R¹²,

en donde R¹⁴ y R¹⁵, independientemente uno de otro, son hidrógeno, metilo, etilo o propilo, y

20 en donde R¹¹ y R¹², independientemente uno de otro, son hidrógeno, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, fenilo o bencilo; y

las sales de adición de ácido de dichos compuestos que contienen un átomo de nitrógeno susceptible de protonación.

En otros aspectos descritos, los moduladores de PDE4 tienen la fórmula:



25

en donde:

el átomo de carbono señalado con * constituye un centro de quiralidad;

Y es C=O, CH₂, SO₂ o CH₂C=O;

X es hidrógeno o alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

30 (i) cada uno de R¹, R², R³ y R⁴, independientemente de los otros, es hidrógeno, halo, trifluorometilo, acetilo, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, nitro, ciano, hidroxilo, -CH₂NR⁸R⁹, -(CH₂)₂NR⁸R⁹ o -

NR⁸R⁹ o

(ii) dos cualquiera de R¹, R², R³ y R⁴ en átomos de carbono adyacentes, junto con el anillo de benceno representado al que están unidos, son naftilideno, quinolina, quinoxalina, bencimidazol, benzodioxol o 2-hidroxi-bencimidazol;

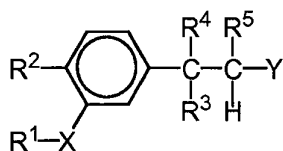
5 cada uno de R⁵ y R⁶, independientemente del otro, es hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, ciano, benzocicloalcoxi, cicloalcoxi de hasta 18 átomos de carbono, bicicloalcoxi de hasta 18 carbonos átomos, tricicloalcoxi de hasta 18 átomos de carbono o cicloalquilalcoxi de hasta 18 átomos de carbono;

(i) cada uno de R⁸ y R⁹, independientemente del otro, es hidrógeno, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, fenilo, bencilo, piridilo, piridilmetilo, o

10 (ii) uno de R⁸ y R⁹ es hidrógeno y el otro es -COR¹⁰ o -SO₂R¹⁰, en donde R¹⁰ es hidrógeno, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, cicloalquilo, cicloalquilmetilo de hasta 6 átomos de carbono, fenilo, piridilo, bencilo, imidazolilmetilo, piridilmetilo, NR¹¹R¹² o CH₂NR¹⁴R¹⁵, en donde R¹¹ y R¹², independientemente uno del otro, son hidrógeno, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, fenilo o bencilo y R¹⁴ y R¹⁵, independientemente uno del otro, son hidrógeno, metilo, etilo o propilo; o

15 (iii) R⁸ y R⁹ juntos son tetrametileno, pentametileno, hexametileno, -CH=NCH=CH- o -CH₂CH₂X¹CH₂CH₂- en donde X¹ es -O-, -S- o -NH-.

Otros moduladores de PDE4 específicos incluyen, pero no se limitan a, ciano y derivados carboxi de estirenos sustituidos (por ejemplo, 3,3-bis-(3,4-dimetoxifenil)acrilonitrilo) descritos en los documentos de patente de EE.UU. n° 5.929.117, 6.130.226, 6.262.101 y 6.479.554. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



20 en donde:

(a) X es -O- o -(C_nH_{2n})- en donde n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3 y R¹ es alquilo de uno a 10 átomos de carbono, monocicloalquilo de hasta 10 átomos de carbono, policicloalquilo de hasta 10 átomos de carbono o alquilo benzocíclico de hasta 10 átomos de carbono, o

25 (b) X es -CH= y R¹ es alquilideno de hasta 10 átomos de carbono, monocicloalquilideno de hasta 10 átomos de carbono o bicicloalquilideno de hasta 10 átomos de carbono;

R² es hidrógeno, nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilo inferior, alquilidenmetilo, alcoxi inferior o halo;

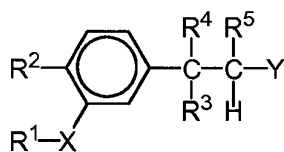
30 R³ es (i) fenilo, no sustituido o sustituido con 1 o más sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, halo, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, carbamoilo sustituido con alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido con un alquilo de 1 a 5 átomos de carbono, alquilo de hasta 10 átomos de carbono, cicloalquilo de hasta a 10 átomos de carbono, alcoxi de hasta 10 átomos de carbono, cicloalcoxi de hasta 10 átomos de carbono, alquilidenmetilo de hasta 10 átomos de carbono, cicloalquilidenmetilo de hasta 10 átomos de carbono, fenilo o metilendioxi; (ii) piridina, piridina sustituida, pirrolidina, imidazol, naftaleno o tiofeno; (iii) cicloalquilo de 4-10 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con 1
35 o más sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, halo, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, fenilo;

cada uno de R⁴ y R⁵ tomados individualmente, es hidrógeno, o R⁴ y R⁵ tomados juntos son un enlace carbono-carbono;

40 Y es -COZ, -C≡N o alquilo inferior de 1 a 5 átomos de carbono;

Z es -OH, -NR⁶R⁶, -R⁷ o -OR⁷; R⁶ es hidrógeno o alquilo inferior; y R⁷ es alquilo o bencilo.

En otros aspectos descritos, los moduladores de PDE4 tienen la fórmula:



en donde:

5 (a) X es -O- o -(C_nH_{2n})- en donde n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3 y R¹ es alquilo de uno a 10 átomos de carbono, monocicloalquilo de hasta 10 átomos de carbono, policicloalquilo de hasta 10 átomos de carbono o alquilo benzocíclico de hasta 10 átomos de carbono, o

(b) X es -CH= y R¹ es alquilideno de hasta 10 átomos de carbono, monocicloalquilideno de hasta 10 átomos de carbono o bicicloalquilideno de hasta 10 átomos de carbono;

R² es hidrógeno, nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilo inferior, alquilidenmetilo inferior, alcoxi inferior o halo;

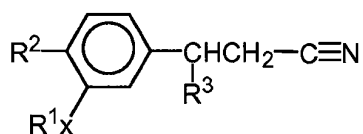
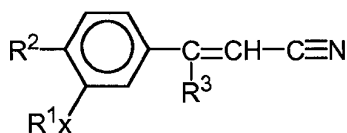
10 R³ es pirrolidina, imidazol o tiofeno no sustituido o sustituido con 1 o más sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, halo, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o fenilo;

15 cada uno de R⁴ y R⁵ tomados individualmente es hidrógeno, o R⁴ y R⁵ tomados juntos son un enlace carbono-carbono;

Y es -COZ, -C≡N o alquilo inferior de 1 a 5 átomos de carbono;

Z es -OH, -NR⁶R⁶, -R⁷ u -OR⁷; R⁶ es hidrógeno o alquilo inferior; y R⁷ es alquilo o bencilo.

En ciertos aspectos descritos, los moduladores de PDE4 son nitrilos de fórmula:



20 en donde:

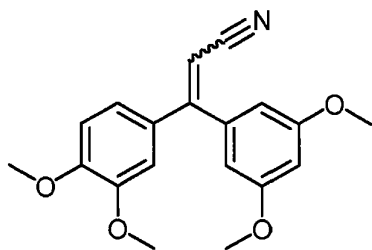
(a) X es -O- o -(C_nH_{2n})- en donde n tiene un valor de 0, 1, 2 o 3 y R¹ es alquilo de hasta 10 átomos de carbono, monocicloalquilo de hasta 10 átomos de carbono, policicloalquilo de hasta 10 átomos de carbono o alquilo benzocíclico de hasta 10 átomos de carbono, o

25 (b) X es =CH y R¹ es alquilideno de hasta 10 átomos de carbono o monocicloalquilideno de hasta 10 átomos de carbono;

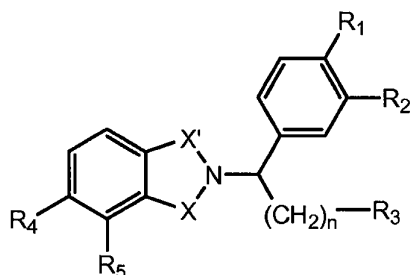
R² es hidrógeno, nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, alquilo inferior, alcoxi inferior o halo; y

30 R³ es (i) fenilo o naftilo, no sustituido o sustituido con 1 o más sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir de nitro, ciano, halo, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo o carbamoilo sustituido con alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido con un alquilo de 1 a 5 átomos de carbono, alcoxi o cicloalcoxi de 1 a 10 átomos de carbono; o (ii) cicloalquilo de 4 a 10 átomos de carbono, no sustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente a partir del grupo que consiste en nitro, ciano, halo, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxi, amino, amino sustituido, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono o fenilo.

35 Un ejemplo es el nitrilo de fórmula:



Otros moduladores de PDE4 incluyen, pero no se limitan a, isoindolin-1-ona y isoindolin-1,3-diona sustituida en la posición 2 con un grupo α -(fenil disustituido en 3,4)alquilo y en la posición 4 y/o 5 con un grupo que contiene nitrógeno descrito en los documentos WO 01/34606 y patente de EE.UU. nº 6.667.316. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable y un estereoisómero del mismo,

en donde:

uno de X y X' es =C=O o =SO₂ y el otro de X y X' es =C=O, =CH₂, =SO₂ o =CH₂C=O;

10 n es 1, 2 o 3;

R₁ y R₂ son cada uno independientemente alquilo (C₁-C₄), alcoxi (C₁-C₄), ciano, cicloalquilo (C₃-C₁₈), cicloalcoxi (C₃-C₁₈) o cicloalquil-(C₃-C₁₈)-metoxi;

R₃ es SO₂-Y, COZ, CN o hidroxialquilo (C₁-C₆), en donde:

Y es alquilo (C₁-C₆), bencilo o fenilo;

15 Z es -NR₆R₇, alquilo (C₁-C₆), bencilo o fenilo;

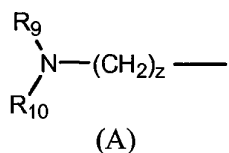
R₆ es H, alquilo (C₁-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₈), alcanoílo (C₂-C₅), bencilo o fenilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halo, amino o alquil (C₁-C₄)-amino;

R₇ es H o alquilo (C₁-C₄);

R₄ y R₅ se toman juntos para proporcionar -NH-CH₂-R₈-, NH-CO-R₈- o -N=CH- R₈, en donde:

20 R₈ es CH₂, O, NH, CH=CH, CH=N o N=CH; o

uno de R₄ y R₅ es H y el otro de R₄ y R₅ es imidazólo, pirrólo, oxadiazolilo, triazolilo o una estructura de fórmula (A),



en donde:

z es 0 o 1;

25 R₉ es: H; alquilo (C₁-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₈), alcanoílo (C₂-C₅) o cicloalcanoílo (C₄-C₆), opcionalmente sustituido con halo, amino, alquil (C₁-C₄)-amino o dialquil (C₁-C₄)-amino; fenilo; bencilo; benzoilo; alcoxicarbonilo (C₂-C₅); alcoxialquilcarbonilo (C₃-C₅); N-morfolinocarbonilo; carbamoílo; carbamoílo sustituido en N sustituido con alquilo (C₁-C₄); o metilsulfonilo; y

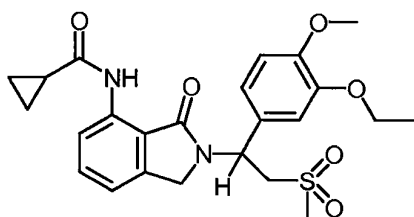
R₁₀ es H, alquilo (C₁-C₄), metilsulfonilo o alcóxialquilcarbonilo (C₃-C₅); o

R₉ y R₁₀ se toman juntos para proporcionar -CH=CH-CH=CH-, -CH=CH-N=CH- o alquilideno (C₁-C₂), opcionalmente sustituido con amino, alquil (C₁-C₄)-amino o dialquil (C₁-C₄)-amino; o

R₄ y R₅ son ambas estructuras de fórmula (A).

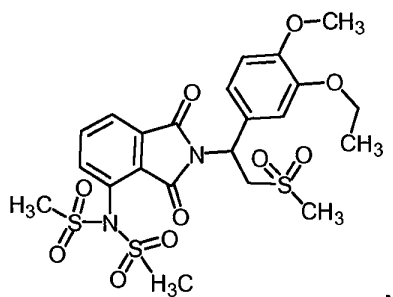
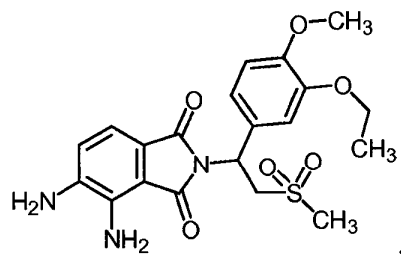
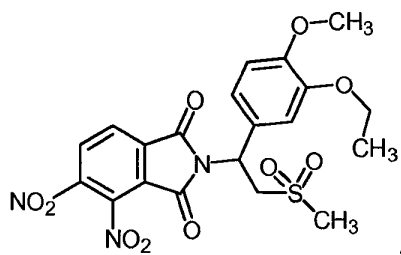
- 5 En un aspecto descrito, z no es 0 cuando (i) R³ es -SO₂-Y, -COZ o -CN y (ii) uno de R⁴ o R⁵ es hidrógeno. En otro aspecto descrito, R⁹ y R¹⁰, tomados juntos, son -CH=CH-CH=CH-, -CH=CH-N=CH- o alquilideno (C₁-C₂) sustituido con amino, alquil (C₁-C₄)-amino o dialquil (C₁-C₄)-amino. En otro aspecto descrito, R₄ y R₅ son ambas estructuras de fórmula (A).

Los compuestos ejemplares tienen la fórmula:

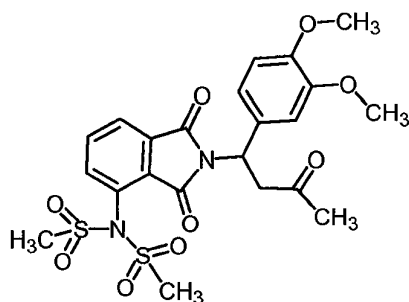


10

y los enantiómeros de los mismos. Otros compuestos ejemplares tienen las fórmulas:



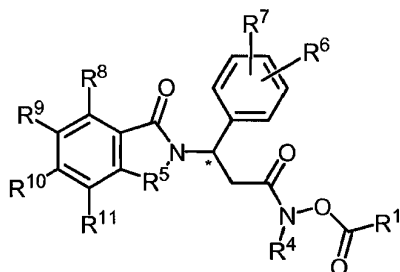
y



Ejemplos adicionales incluyen, pero no se limitan a: 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-4,5-dinitroisindolin-1,3-diona; 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-4,5-diaminoisindolin-1,3-diona; 7-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-3-pirrolino[3,4-e]bencimidazol-6,8-diona; 7-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]hidro-3-pirrolino[3,4-e]bencimidazol-2,6,8-triona; 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-3-pirrolino[3,4-f]quinoxalina-1,3-diona; ciclopropil-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}carboxamida; 2-cloro-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; 2-amino-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; 2-N,N-dimetilamino-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}-2,2,2-trifluoroacetamida; N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}metoxicarboxamida; 4-[1-aza-2-(dimetilamino)vinil]-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]isindolin-1,3-diona; 4-[1-aza-2-(dimetilamino)prop-1-enil]-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]isindolin-1,3-diona; 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-4-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)isindolin-1,3-diona; 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-4-pirrolilisindolin-1,3-diona; 4-(aminometil)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]isindolin-1,3-diona; 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-4-(pirrolilmetil)isindolin-1,3-diona; N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-hidroxibutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; N-{2-[1R-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-hidroxibutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; N-{2-[1R-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; N-{2-[1S-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-hidroxibutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; N-{2-[1S-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; 4-amino-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-hidroxibutil]isindolin-1,3-diona; 4-amino-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]isindolin-1,3-diona; 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-4-pirrolilisindolin-1,3-diona; 2-cloro-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; 2-(dimetilamino)-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; 4-amino-2-[1R-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-hidroxibutil]isindolin-1,3-diona; 4-amino-2-[1R-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]isindolin-1,3-diona; 2-[1R-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-4-pirrolilisindolin-1,3-diona; 2-(dimetilamino)-N-{2-[1R-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; ciclopentil-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}carboxamida; 3-(dimetilamino)-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}propanamida; 2-(dimetilamino)-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}propanamida; N-{2-[(1R)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}-2-(dimetilamino)acetamida; N-{2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}-2-(dimetilamino)acetamida; 4-{3-[(dimetilamino)metil]pirrolil}-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]isindolin-1,3-diona; ciclopropil-N-{2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}carboxamida; 2-[1-(3,4-dimetoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-4-pirrolilisindolin-1,3-diona; N-{2-[1-(3,4-dimetoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}-2-(dimetilamino)acetamida; ciclopropil-N-{2-[1-(3,4-dimetoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}carboxamida; ciclopropil-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-3-oxoisindolin-4-il}carboxamida; 2-(dimetilamino)-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-3-oxoisindolin-4-il}acetamida; ciclopropil-N-{2-[(1R)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-3-oxoisindolin-4-il}carboxamida; ciclopropil-N-{2-[(1R)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-3-oxoisindolin-4-il}carboxamida; (3R)-3-[7-(acetilamino)-1-oxoisindolin-2-il]-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N,N-dimetilpropanamida; (3R)-3-[7-(ciclopropilcarbonilamino)-1-oxoisindolin-2-il]-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N,N-dimetilpropanamida; 3-[4-[2-(dimetilamino)acetilamino]-1,3-dioxoisindolin-2-il]-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N,N-dimetilpropanamida; (3R)-3-[7-(2-cloroacetilamino)-1-oxoisindolin-2-il]-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N,N-dimetilpropanamida; (3R)-3-[4-[2-(dimetilamino)acetilamino]-1,3-dioxoisindolin-2-il]-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N,N-dimetilpropanamida; 3-(1,3-dioxo-4-pirrolilisindolin-2-il)-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-N,N-dimetilpropanamida; 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-4-(imidazolil-metil)isindolin-1,3-diona; N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}metilacetamida; 2-cloro-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}metilacetamida; 2-(dimetilamino)-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}metilacetamida; 4-[bis(metilsulfonil)amino]-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]isindolin-1,3-diona; 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-4-[(metilsulfonil)amino]isindolin-1,3-diona; N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-hidroxipentil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxopentil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; {2-[(1R)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-hidroxibutil]-4-(pirrolilmetil)isindolin-1,3-diona; {2-[(1R)-1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-4-(pirrolilmetil)isindolin-1,3-diona; N-{2-[1-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-3-hidroxibutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; N-{2-[1-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-1,3-dioxoisindolin-4-il}acetamida; 2-[1-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-3-oxobutil]-4-pirrolilisindolin-1,3-diona; 2-[1-(3,4-dimetoxifenil)-3-oxobutil]-4-

[bis(metilsulfonyl)amino]isoindolin-1,3-diona; y sales, solvatos y estereoisómeros de los mismos farmacéuticamente aceptables.

Todavía otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, ácidos acilhidroxámicos sustituidos con imido y amido (por ejemplo, (3-(1,3-dioxoisindolin-2-il)-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)propanoilamino)propanoato) descritos en el documento WO 01/45702 y la patente de EE.UU. nº 6.699.899. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



en donde:

el átomo de carbono señalado con * constituye un centro de quiralidad,

R⁴ es hidrógeno o -(C=O)-R¹²,

- 10 cada uno de R¹ y R¹², independientemente uno de otro, es alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, fenilo, bencilo, metilo piridilo, piridilo, imidazolilo, metil imidazolilo, o

CHR⁺(CH₂)_nNR⁰,

en donde R⁺ y R⁰, independientemente uno del otro, son hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, fenilo, bencilo, metil piridilo, piridilo, imidazolilo o imidazolilmetilo y n = 0, 1 o 2;

- 15 R⁵ es C=O, CH₂, CH₂-CO- o SO₂;

20 cada uno de R⁶ y R⁷, independientemente uno del otro, es nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, cicloalcoxi de 3 a 8 átomos de carbono, halo, bicicloalquilo de hasta 18 átomos de carbono, tricloalcoxi de hasta 18 átomos de carbono, 1-indanilo, 2-indanilo, cicloalquilidenmetilo (C₄-C₈) o alquilidenmetilo (C₃-C₁₀);

cada uno de R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹, independientemente de los otros, es

(i) hidrógeno, nitro, ciano, trifluorometilo, carbetoxi, carbometoxi, carbopropoxi, acetilo, carbamoilo, acetoxi, carboxi, hidroxilo, amino, alquilamino, dialquilamino, acilamino, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 10 átomos de carbono, halo o

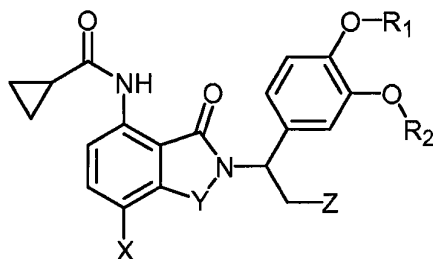
- 25 (ii) uno de R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ es acilamino que comprende un alquilo inferior y el resto R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ es hidrógeno, o

(iii) hidrógeno si R⁸ y R⁹ tomados juntos son benzo, quinolina, quinoxalina, bencimidazol, benzodioxol, 2-hidroxibencimidazol, metilendioxi, dialcoxi o dialquilo, o

- 30 (iv) hidrógeno si R¹⁰ y R¹¹, tomados juntos son benzo, quinolina, quinoxalina, bencimidazol, benzodioxol, 2-hidroxibencimidazol, metilendioxi, dialcoxi o dialquilo, o

(v) hidrógeno si R⁹ y R¹⁰ tomados juntos son benzo.

Otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, compuestos de 7-amido-isoindolilo descritos en el documento de publicación de patente de EE.UU. nº 2004/0254214. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



en donde:

Y es -C(O)-, -CH₂-, -CH₂C(O)- o SO₂;

X es H;

- 5 Z es (alquil-C₀-C₄)-C(O)R³, alquilo-C₁-C₄, (alquil-C₀-C₄)-OH, (alquil-C₁-C₄)-O(alquilo-C₁-C₄), (alquil-C₁-C₄)-SO₂(alquilo-C₁-C₄), (alquil-C₀-C₄)-SO(alquilo-C₁-C₄), (alquil-C₀-C₄)-NH₂, (alquil-C₀-C₄)-N(alquilo-C₁-C₈)₂, (alquil-C₀-C₄)-N(H)(OH) o CH₂NSO₂(alquilo-C₁-C₄);

R₁ y R₂ son independientemente alquilo-C₁-C₈, cicloalquilo o (alquil-C₁-C₄)cicloalquilo;

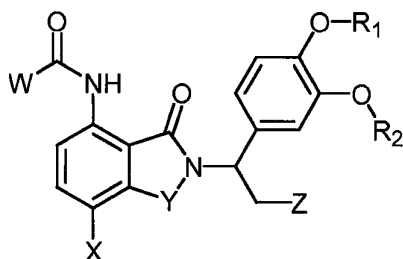
R³ es, NR⁴ R⁵, OH u O-(alquilo-C₁-C₈);

- 10 R⁴ es H;

R⁵ es -OH, o -OC(O)R⁶;

R⁶ es alquilo-C₁-C₈, amino-(alquilo-C₁-C₈), (alquil-C₁-C₈)-(cicloalquilo-C₃-C₆), cicloalquilo-C₃-C₆, fenilo, bencilo o arilo;

o una sal, solvato, hidrato, estereoisómero, clatrato o profármaco de los mismos farmacéuticamente aceptable; o la fórmula:



- 15

en donde:

Y es -C(O)-, -CH₂-, -CH₂C(O)- o SO₂;

X es halógeno, -CN, -NR₇R₈, -NO₂ o -CF₃;

- 20 Z es (alquil-C₀-C₄)-SO₂(alquilo-C₁-C₄), -(alquil-C₀-C₄)-CN, -(alquil-C₀-C₄)-C(O)R³, alquilo-C₁-C₄, (alquil-C₀-C₄)OH, (alquil-C₀-C₄)O(alquilo-C₁-C₄), (alquil-C₀-C₄)SO(alquilo-C₁-C₄), (alquil-C₀-C₄)NH₂, (alquil-C₀-C₄)N(alquilo-C₁-C₈)₂, (alquil-C₀-C₄)N(H)(OH), (alquil-C₀-C₄)-dicloropiridina o (alquil-C₀-C₄)NSO₂(alquilo-C₁-C₄);

W es cicloalquilo-C₃-C₆, -(alquil-C₁-C₈)-(cicloalquilo-C₃-C₆), -(alquil-C₀-C₈)-(cicloalquil-C₃-C₆)NR₇R₈, (alquil-C₀-C₈)-NR₇R₈, (alquil-C₀-C₄)-CHR₉-(alquil-C₀-C₄)-NR₇R₈;

R₁ y R₂ son independientemente alquilo-C₁-C₈, cicloalquilo o (alquil-C₁-C₄)cicloalquilo;

- 25 R³ es alquilo-C₁-C₈, NR⁴R⁵, OH u O-(alquilo-C₁-C₈);

R⁴ y R⁵ son independientemente H, alquilo-C₁-C₈, (alquil-C₀-C₈)-(cicloalquilo-C₃-C₆), OH u -OC(O)R⁶;

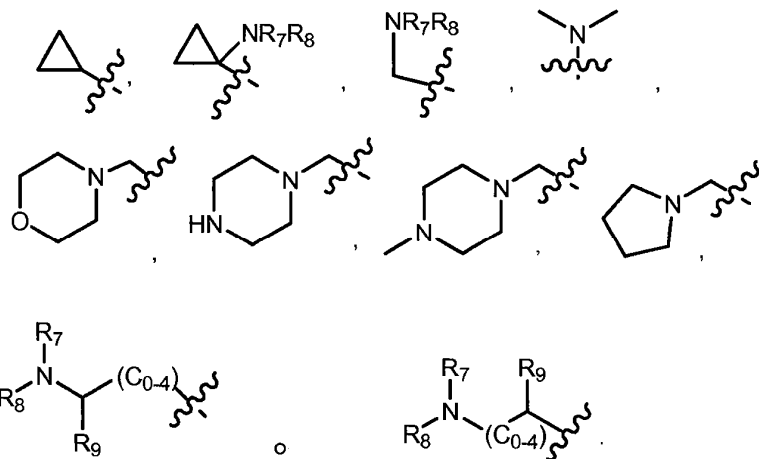
R⁶ es alquilo-C₁-C₈, (alquil-C₀-C₈)-(cicloalquilo-C₃-C₆), amino-(alquilo-C₁-C₈), fenilo, bencilo o arilo;

R₇ y R₈ son cada uno independientemente H, alquilo-C₁-C₈, (alquil-C₀-C₈)-(cicloalquilo-C₃-C₆), fenilo, bencilo, arilo o se pueden tomar junto con el átomo que los conecta para formar un anillo heterocicloalquilo o un heteroarilo de 3 a 7 miembros;

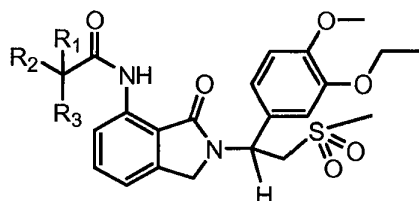
- 30

R₉ es alquilo-C₁-C₄, (alquil-C₀-C₄)arilo, (alquil-C₀-C₄)-(cicloalquilo-C₃-C₆), (alquil-C₀-C₄)-heterociclo; o una sal, solvato, hidrato, estereoisómero, clatrato o profármaco de los mismos farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto descrito, W es



5 En otro aspecto descrito, los compuestos representativos tienen la fórmula:



en donde:

R₁, R₂ y R₃ son independientemente H o alquilo-C₁-C₈, con la condición de que al menos uno de R₁, R₂ y R₃ no sea H;

10 o una sal, solvato, hidrato, estereoisómero, clatrato o profármaco de los mismos farmacéuticamente aceptable.

Otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, compuestos de isoindolina descritos en el documento de publicación de patente de EE.UU. n° 2006/0025457. Los compuestos representativos se indican en la Tabla 1 a continuación, para los cuales también se incluyen profármacos, sales, solvatos, y estereoisómeros de los mismos farmacéuticamente aceptables:

15

Tabla 1.

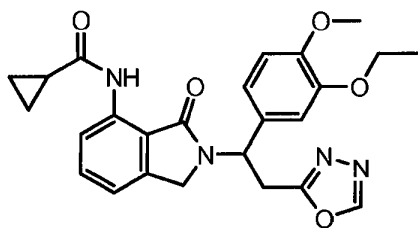
Nº	Estructura	Nº	Estructura
1		2	
3		4	
5		6	

7		8	
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	

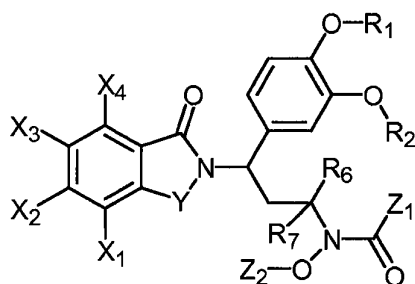
En otro aspecto descrito, también se describen 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-4,5-dinitroisoin-dolin-1,3-diona y sus sales de adición de ácido. En otro aspecto descrito, se proporciona un clorhidrato de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfoniletil]-4,5-dinitroisoin-dolin-1,3-diona.

- 5 Otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, compuestos de isoindolina descritos en el documento de publicación de patente de EE.UU. nº 2006/0084815. Los compuestos representativos son

{2-[1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-[1,3,4]oxadiazol-2-il-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoin-dol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico, que tiene la siguiente estructura química y sales, solvatos, profármacos y estereoisómeros de los mismos farmacéuticamente aceptables:



Otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, compuestos de isoindolil-ácido N-alquil-hidroxámico descritos en el documento de publicación de patente de EE.UU. n° 2004/0259873. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



5

en donde:

Y es -C(O)-, -CH₂, -CH₂C(O)- o SO₂;

R₁ y R₂ son independientemente alquilo-C₁-C₈, CF₂H, CF₃, CH₂CHF₂, cicloalquilo o (alquil-C₁-C₈)cicloalquilo;

Z₁ es H, alquilo-C₁-C₆, -NH₂-NR₃R₄ u OR₅;

10 Z₂ es H o C(O)R₅;

X₁, X₂, X₃ y X₄ son cada uno independientemente H, halógeno, NO₂, OR₃, CF₃, alquilo-C₁-C₆, (alquil-C₀-C₄)-(cicloalquilo-C₃-C₆), (alquil-C₀-C₄)-N-(R₈R₉), (alquil-C₀-C₄)-NHC(O)-(R₈), (alquil-C₀-C₄)-NHC(O)CH(R₈)(R₉), (alquil-C₀-C₄)-NHC(O)N(R₈R₉), (alquil-C₀-C₄)-NHC(O)O(R₈), (alquil-C₀-C₄)-O-R₈, (alquil-C₀-C₄)imidazolilo, (alquil-C₀-C₄)pirrolilo, (alquil-C₀-C₄)oxadiazolilo, (alquil-C₀-C₄)-triazolilo o (alquil-C₀-C₄)-heterociclo;

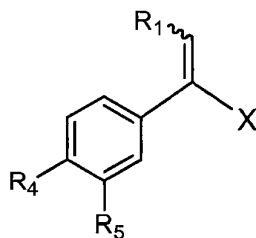
15 R₃, R₄ y R₅ son cada uno independientemente H, alquilo-C₁-C₆, O-alquilo-C₁-C₆, fenilo, bencilo o arilo;

R₆ y R₇ son independientemente H o alquilo-C₁-C₆;

R₈ y R₉ son cada uno independientemente H, alquilo-C₁-C₉, cicloalquilo-C₃-C₆, (alquil-C₁-C₆)-(cicloalquilo-C₃-C₆), (alquil-C₀-C₆)-N(R₄R₅), (alquil-C₁-C₆)-OR₅, fenilo, bencilo, arilo, piperidinilo, piperizinilo, pirrolidinilo, morfolino o heterocicloalquilo-C₃-C₇;

20 o una sal, solvato, hidrato, estereoisómero, clatrato o profármaco de los mismos farmacéuticamente aceptables.

Otros moduladores de PDE 4 incluyen, pero no se limitan a, compuestos de difeniletileno descritos en el documento de publicación de patente de EE.UU. n° 2005/0014727. Los compuestos representativos tienen la fórmula:



o una sal, solvato o hidratos de los mismos farmacéuticamente aceptables,

25 en donde:

R₁ es -CN, alquilo inferior, -COOH, -C(O)-N(R₉)₂, -C(O)-alquilo inferior, -C(O)-bencilo, -C(O)-alquilo inferior, -C(O)-bencilo;

R₄ es -H, -NO₂, ciano, alquilo inferior sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, halógeno, -OH, -C(O)(R₁₀)₂, -COOH, -NH₂, -OC(O)-N(R₁₀)₂;

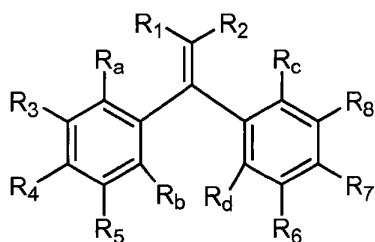
- 5 R₅ es alquilo inferior sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido o alqueno sustituido o no sustituido;

X es fenilo sustituido o no sustituido, piridina sustituida o no sustituida, pirrolidina sustituida o no sustituida, imidazol sustituido o no sustituido, naftaleno sustituido o no sustituido, tiofeno sustituido o no sustituido o cicloalquilo sustituido o no sustituido;

cada aparición de R₉ es independientemente -H o alquilo inferior sustituido o no sustituido; y

- 10 cada aparición de R₁₀ es independientemente -H o alquilo inferior sustituido o no sustituido.

En otro aspecto descrito, los compuestos representativos tienen la fórmula:



o una sal, solvato o hidrato de los mismos farmacéuticamente aceptables,

en donde:

- 15 R₁ y R₂ son independientemente -H, -CN, alquilo inferior sustituido o no sustituido, alqueno sustituido o no sustituido, alquilo sustituido o no sustituido, -COOH, -C(O)-alquilo inferior, -C(O)-alquilo inferior, -C(O)-N(R₉)₂, arilo sustituido o no sustituido o heterociclo sustituido o no sustituido;

- cada aparición de R_a, R_b, R_c y R_d es independientemente -H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterociclo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, halógeno, ciano, -NO₂, -OH, -OPO(OH)₂, -N(R₉)₂, -OC(O)-R₁₀, -OC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -C(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)-R₁₀, -NHS(O)₂-R₁₀, -S(O)₂-R₁₀, -NHC(O)NH-R₁₀, -NHC(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)NHSO₂-R₁₀, -NHC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -NHC(O)CH(R₁₀)(N(R₉)₂) o -NHC(O)-R₁₀-NH₂;

- 25 R₃ es -H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterociclo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, halógeno, ciano, -NO₂, -OH, -OPO(OH)₂, -N(R₉)₂, -OC(O)-R₁₀, -OC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -C(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)-R₁₀, -NHS(O)₂-R₁₀, -S(O)₂-R₁₀, -NHC(O)NH-R₁₀, -NHC(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)NHSO₂-R₁₀, -NHC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -NHC(O)CH(R₁₀)(N(R₉)₂) o -NHC(O)-R₁₀-NH₂, o R₃ ya sea con R_a o con R₄, juntos forman -O-C(R₁₆R₁₇)-O- u -O-(C(R₁₆R₁₇))₂-O-;

- 30 R₄ es -H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterociclo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, halógeno, ciano, -NO₂, -OH, -OPO(OH)₂, -N(R₉)₂, -OC(O)-R₁₀, -OC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -C(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)-R₁₀, -NHS(O)₂-R₁₀, -S(O)₂-R₁₀, -NHC(O)NH-R₁₀, -NHC(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)NHSO₂-R₁₀, -NHC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -NHC(O)CH(R₁₀)(N(R₉)₂) o -NHC(O)-R₁₀-NH₂;

- 35 R₅ es -H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterociclo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, halógeno, ciano, -NO₂, -OH, -OPO(OH)₂, -N(R₉)₂, -OC(O)-R₁₀, -OC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -C(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)-R₁₀, -NHS(O)₂-R₁₀, -S(O)₂-R₁₀, -NHC(O)NH-R₁₀, -NHC(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)NHSO₂-R₁₀, -NHC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -NHC(O)CH(R₁₀)(N(R₉)₂) o -NHC(O)-R₁₀-NH₂;

- R₆ es -H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterociclo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, halógeno, ciano, -NO₂, -OH, -OPO(OH)₂, -N(R₉)₂, -OC(O)-R₁₀, -OC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -C(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)-R₁₀, -NHS(O)₂-R₁₀, -S(O)₂-R₁₀, -NHC(O)NH-R₁₀, -NHC(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)NHSO₂-R₁₀, -NHC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -NHC(O)CH(R₁₀)(N(R₉)₂) o -NHC(O)-R₁₀-NH₂;

- 40 R₇ es -H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterociclo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, halógeno, ciano, -NO₂, -OH, -OPO(OH)₂, -N(R₉)₂, -OC(O)-R₁₀, -OC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -C(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)-R₁₀, -NHS(O)₂-R₁₀, -S(O)₂-R₁₀, -NHC(O)NH-R₁₀, -NHC(O)N(R₁₀)₂, -NHC(O)NHSO₂-R₁₀, -NHC(O)-R₁₀-N(R₁₀)₂, -NHC(O)CH(R₁₀)(N(R₉)₂) o -NHC(O)-R₁₀-NH₂;

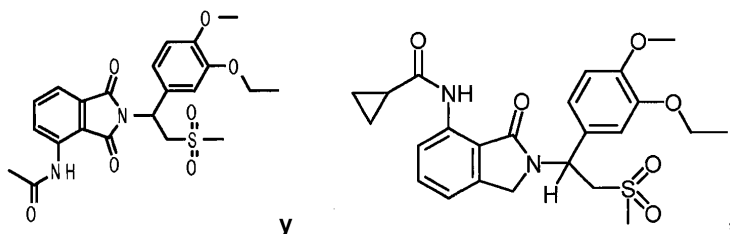
R_8 es -H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterociclo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, halógeno, ciano, $-\text{NO}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{OPO}(\text{OH})_2$, $-\text{N}(\text{R}_9)_2$, $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}_{10}$, $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}_{10}-\text{N}(\text{R}_{10})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{10})_2$, $-\text{NHC}(\text{O})-\text{R}_{10}$, $-\text{NHS}(\text{O})_2-\text{R}_{10}$, $-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}_{10}$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-\text{R}_{10}$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{10})_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHSO}_2-\text{R}_{10}$, $-\text{NHC}(\text{O})-\text{R}_{10}-\text{N}(\text{R}_{10})_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}(\text{R}_{10})\text{N}(\text{R}_9)_2$ o $-\text{NHC}(\text{O})-\text{R}_{10}-\text{NH}_2$, o R_8 ya sea con R_c o con R_7 , juntos forman $-\text{O}-\text{C}(\text{R}_{16}\text{R}_{17})-\text{O}-$ u $-\text{O}-\text{C}(\text{R}_{16}\text{R}_{17})_2-\text{O}-$;

cada aparición de R_9 es independientemente -H, alquilo inferior sustituido o no sustituido o cicloalquilo sustituido o no sustituido;

cada aparición de R_{10} es independientemente alquilo inferior sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, hidroxialquilo inferior sustituido o no sustituido, o R_{10} y un nitrógeno al que está fijado forman un heterociclo sustituido o no sustituido o R_{10} es -H cuando sea apropiado; y

cada aparición de R_{16} y R_{17} es independientemente -H o halógeno.

En un aspecto descrito, los compuestos proporcionados en este documento son 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-metilsulfonietil]-4-acetilaminoisindolin-1,3-diona y ciclopropil-N-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil]-3-oxoisindolin-4-il}carboxamida, que tienen respectivamente las siguientes estructuras:

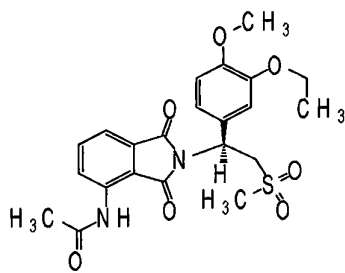


o una sal, solvato o profármaco de los mismos farmacéuticamente aceptables. En otro aspecto descrito, también se incluyen los estereoisómeros de estos compuestos.

Todos los compuestos descritos o bien se pueden adquirir comercialmente o preparar de acuerdo con los métodos descritos en las patentes o publicaciones de patente descritas en este documento. Además, los compuestos ópticamente puros se pueden sintetizar asimétricamente o mediante resolución usando agentes de resolución conocidos o columnas quirales así como otras técnicas de química orgánica de síntesis convencionales.

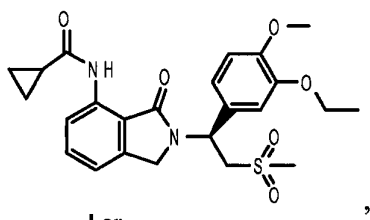
Los compuestos usados en el presente documento pueden ser moléculas orgánicas pequeñas que tienen un peso molecular inferior a aproximadamente 1.000 g/mol y no son proteínas, péptidos, oligonucleótidos, oligosacáridos u otras macromoléculas.

En un aspecto específico descrito, el modulador de PDE4 es (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida:



o una sal, solvato o estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, el modulador de PDE4 es {2-[(1S)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico



o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable.

Cabe señalar que si hay una discrepancia entre una estructura representada y un nombre dado a esa estructura, a la estructura representada se le debe conceder más peso. Además, si la estereoquímica de una estructura o una porción de una estructura no se indica, por ejemplo, con líneas en negrita o discontinuas, la estructura o la porción de la estructura debe interpretarse como que incluye todos los estereoisómeros de la misma.

4.5 Métodos para detectar el ARNm o los niveles de proteína en una muestra

Se puede emplear cualquier método adecuado para la detección de diferencias de los niveles de ARNm o de biomarcadores proteicos. En algunas realizaciones, el biomarcador que se va a detectar es una molécula de ARNm. En otras realizaciones, el método para medir la expresión de un gen o una proteína puede implicar métodos tales como la hibridación de ADNc, citometría de flujo, inmunofluorescencia, inmunotransferencias, ELISAs o ensayos de inmunofluorescencia con anticuerpo en micromanchas, un ensayo basado en anticuerpos con tira reactiva, matrices con perlas para citometría, u otros métodos comunes para la detección de ARNm o proteínas.

4.5.1 Métodos para detectar los niveles de ARNm en una muestra

Se conocen diversos métodos para detectar o cuantificar los niveles de ARNm en la técnica. Los métodos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, transferencias Northern, ensayos de protección de ribonucleasa, métodos basados en la PCR y similares. Cuando el biomarcador es una molécula de ARNm, la secuencia de ARNm o un fragmento de la misma, se puede utilizar para preparar una sonda que es al menos parcialmente complementaria. La sonda se puede utilizar entonces para detectar la secuencia de ARNm en una muestra, usando cualquier ensayo adecuado, tal como métodos basados en la PCR, transferencia Northern, un ensayo con tira reactiva y similares.

En otras realizaciones, se puede preparar un ensayo de ácido nucleico para analizar la actividad inmunomoduladora en una muestra biológica. Un ensayo contiene normalmente un soporte sólido y al menos un ácido nucleico en contacto con el soporte, en donde el ácido nucleico se corresponde con al menos una porción de un ARNm que tiene una expresión alterada durante un tratamiento inmunomodulador en un paciente. El ensayo también puede tener un medio para detectar la expresión alterada del ARNm en la muestra.

El método de ensayo se puede variar dependiendo del tipo de información de ARNm deseada. Los métodos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, transferencias Northern y métodos basados en la PCR (por ejemplo, qRT-PCR). Métodos tales como qRT-PCR también pueden cuantificar con precisión la cantidad de ARNm en una muestra.

Cualquier plataforma de ensayo adecuada se puede utilizar para determinar la presencia del ARNm en una muestra. Por ejemplo, un ensayo puede estar en forma de una tira reactiva, una membrana, un chip, un disco, una tira de prueba, un filtro, una microesfera, un portaobjetos, una placa de múltiples pocillos o una fibra óptica. Un sistema de ensayo puede tener un soporte sólido sobre el que se fija un ácido nucleico correspondiente al ARNm. El soporte sólido puede comprender, por ejemplo, un plástico, silicio, un metal, una resina, vidrio, una membrana, una partícula, un precipitado, un gel, un polímero, una lámina, una esfera, un polisacárido, un capilar, una película, una placa o un portaobjetos. Los componentes del ensayo se pueden preparar y se envasan juntos como un kit para detectar un ARNm.

El ácido nucleico se puede marcar, si se desea, para preparar una población de ARNm marcados. En general, una muestra se puede marcar utilizando métodos que son bien conocidos en la técnica (por ejemplo, usando ADN ligasa, transferasa terminal o marcando la estructura principal del ARN, etc.; véase, por ejemplo, Ausubel, et al., *Short Protocols in Molecular Biology*, 3ª ed., Wiley & Sons 1995 y Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Tercera edición, 2001 Cold Spring Harbor, N.Y.). En algunas realizaciones, la muestra se marca con un marcador fluorescente. Colorantes fluorescentes a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, colorantes de xanteno, colorantes de fluoresceína, colorantes de rodamina, isotiocianato de fluoresceína (FITC), 6 carboxifluoresceína (FAM), 6 carboxi-2',4',7',4',7-hexaclorofluoresceína (HEX), 6 carboxi 4',5'-dicloro-2',7'-dimetoxifluoresceína (JOE o J), N,N,N',N'-tetrametil 6 carboxi rodamina (TAMRA o T), 6 carboxi X rodamina (ROX o R), 5 carboxi rodamina 6G (R6G5 o G5), 6 carboxi rodamina 6G (R6G6 o G6) y rodamina 110; colorantes de cianina, por ejemplo, los colorantes Cy3, Cy5 y Cy7; colorantes Alexa, por ejemplo, Alexa-fluor-555; cumarina, dietilaminocumarina, umbeliferona; colorantes de benzimida, por ejemplo, Hoechst 33258; colorantes de fenantridina, por ejemplo, rojo de Texas; colorantes de etidio; colorantes de acridina; colorantes de carbazol; colorantes de fenoxazina; colorantes de porfirina; colorantes de polimetina, colorantes BODIPY, colorantes de quinolina, pireno, clorotriazinil fluoresceína, R110, eosí-

na, JOE, R6G, tetrametil rodamina, lisamina, ROX, naftofluoresceína y similares.

Los ácidos nucleicos pueden estar presentes en lugares específicos, direccionables sobre un soporte sólido; en donde cada uno se corresponde con al menos una porción de las secuencias de ARNm que se expresan de forma diferencial después del tratamiento con un compuesto inmunomodulador en una célula o un paciente.

- 5 Un método de ensayo de ARNm típico puede contener las etapas de 1) obtención de sondas de un sujeto unidas a una superficie; 2) hibridación de una población de ARNm con las sondas unidas a una superficie en condiciones suficientes para proporcionar una unión específica; (3) lavados posteriores a la hibridación para eliminar los ácidos nucleicos no unidos en la hibridación; y (4) detección de los ARNMs hibridados. Los reactivos utilizados en cada una de estas etapas y sus condiciones de uso pueden variar dependiendo de la aplicación particular.
- 10 La hibridación se puede llevar a cabo en condiciones de hibridación adecuadas, que pueden variar según se desee el rigor. Las condiciones típicas son suficientes para producir complejos de sonda/diana sobre una superficie sólida entre miembros que se unen de forma complementaria, es decir, entre las sondas de sujetos unidas a la superficie y ARNMs complementarios en una muestra. En ciertas realizaciones, se pueden emplear condiciones de hibridación rigurosas.
- 15 La hibridación se realiza normalmente en condiciones de hibridación rigurosas. Las técnicas de hibridación convencionales (por ejemplo, en condiciones suficientes para proporcionar una unión específica de los ARNm diana en la muestra con las sondas) se describen en Kallioniemi et al., *Science* 258:818-821 (1992) y el documento WO 93/18186. Varias guías para técnicas generales están disponibles, por ejemplo, Tijssen, *Hybridization with Nucleic Acid Probes*, Partes I y II (Elsevier, Amsterdam 1993). Para descripciones de las técnicas adecuadas para hibridaciones *in situ*, véase Gall et al. *Meth. Enzymol.*, 21:470-480 (1981); y Angerer et al. en *Genetic Engineering: Principles and Methods* (Setlow y Hollaender, compiladores) vol. 7, pgs 43-65 (Plenum Press, New York 1985). La selección de unas condiciones apropiadas, incluyendo la temperatura, concentración de sal, concentración de polinucleótidos, tiempo de hibridación, el rigor de las condiciones de lavado y similares, dependerán del diseño experimental, incluyendo la fuente de la muestra, la identidad de los agentes de captura, el grado de complementariedad prevista, etc., y se pueden determinar como una cuestión de experimentación de rutina para aquellos expertos ordinarios en la técnica.

Los expertos ordinarios en la técnica reconocerán fácilmente que unas condiciones de hibridación y lavado alternativas pero comparables se pueden utilizar para proporcionar condiciones con un rigor similar.

- 30 Después del procedimiento de hibridación del ARNm, los polinucleótidos unidos a la superficie normalmente se lavan para eliminar los ácidos nucleicos no unidos. El lavado se puede llevar a cabo utilizando cualquier protocolo de lavado conveniente, en donde las condiciones de lavado son normalmente estrictas, como se ha descrito anteriormente. La hibridación de los ARNMs diana con las sondas se detecta a continuación utilizando técnicas convencionales.

4.5.2 Métodos basados en la PCR para detectar los biomarcadores de ARNm

- 35 Otros métodos, tales como los métodos basados en la PCR, también se pueden utilizar para controlar la expresión de los biomarcadores de ARNm. Ejemplos de métodos de PCR se pueden encontrar en las publicaciones. Ejemplos de ensayos de PCR se pueden encontrar en el documento de Patente de EE.UU. n° 6.927.024. Ejemplos de métodos de RT-PCR se pueden encontrar en el documento de Patente de EE.UU. n° 7.122.799. Un método de PCR con fluorescencia *in situ* se describe en el documento de Patente de EE.UU. n° 7.186.507.
- 40 En algunas realizaciones, la transcripción inversa en tiempo real-PCR (qRT-PCR) se puede utilizar tanto para la detección como para la cuantificación de dianas de ARN (Bustin, et al., 2005, *Clin. Sci.*, 109:365-379). Los resultados cuantitativos obtenidos mediante qRT-PCR son generalmente más informativos que los datos cualitativos. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los ensayos basados en qRT-PCR pueden ser útiles para medir los niveles de ARNm durante ensayos basados en células. El método de qRT-PCR también es útil para realizar un seguimiento de la terapia de un paciente. Ejemplos de métodos basados en qRT-PCR se pueden encontrar, por ejemplo, en el documento de Patente de EE.UU. n° 7.101.663.
- 45

- 50 En contraste con la PCR con transcriptasa inversa normal y el análisis con geles de agarosa, la PCR en tiempo real proporciona resultados cuantitativos. Una ventaja adicional de la PCR en tiempo real es la relativa facilidad y la comodidad del uso. Instrumentos para la PCR en tiempo real, tales como el Applied Biosystems 7500, están disponibles comercialmente, igual que los reactivos, tales como la química TaqMan de detección de secuencias. Por ejemplo, se pueden emplear los ensayos para la expresión génica de TaqMan®, siguiendo las instrucciones del fabricante. Estos kits son ensayos de expresión génica formulados previamente para una detección rápida y fiable, y una cuantificación de los transcritos de ARNm de ser humano, ratón y rata. Un programa de PCR a modo de ejemplo es, por ejemplo, 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos, 40 ciclos de 95°C durante 15 segundos, luego 60°C durante 1 minuto.
- 55

Para determinar el número del ciclo en el cual la señal de fluorescencia asociada con una acumulación de un amplificación particular, cruza el umbral (referido como el CT), los datos se pueden analizar, por ejemplo, usando un programa

ma informático “7500 Real-Time PCR System Sequence Detection” v1.3, usando el método de cálculo comparativo de la cuantificación relativa de CT. Usando este método, el resultado se expresa como un factor de cambio de los niveles de expresión. En algunas realizaciones, el nivel umbral se puede seleccionar para que se determine automáticamente mediante el programa informático. En algunas realizaciones, el nivel umbral se establece para que sea superior a la línea de base, pero suficientemente bajo para estar dentro de la región de crecimiento exponencial de una curva de amplificación.

4.5.3 Métodos de detección de biomarcadores de polipéptidos o proteínas

Cuando el biomarcador es una proteína, se pueden emplear diversos métodos de detección y cuantificación de proteínas para medir la presencia del biomarcador. Cualquier método de cuantificación de proteínas adecuado se puede utilizar. En algunas realizaciones, se utilizan métodos basados en anticuerpos. Los métodos ejemplares que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, inmunotransferencia (transferencia Western), ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), inmunohistoquímica, citometría de flujo, matriz de citometría con perlas, espectroscopia de masas y similares. Varios tipos de ELISA se utilizan comúnmente, incluyendo ELISA directo, ELISA indirecto y ELISA de tipo sándwich.

4.6 Kits para detectar biomarcadores de ARNm

En algunos aspectos descritos, se puede preparar un kit para detectar los biomarcadores de ARNm. Los kits pueden incluir, por ejemplo, una sonda o un conjunto de sondas que comprenden oligonucleótidos que se pueden unir a uno o varios biomarcadores de ARNm de interés para la psoriasis. También pueden estar incluidas soluciones de lavado, reactivos para realizar un ensayo de hibridación, medios para el aislamiento o la purificación del ARNm, medios de detección, así como controles positivos y negativos. El kit también puede incluir instrucciones para usar los componentes del kit. El kit se puede adaptar para un uso en el hogar, uso clínico o uso en investigación.

4.7 Kits para detectar biomarcadores de polipéptidos o proteínas

En algunos aspectos descritos, se puede preparar un kit para detectar los niveles de proteína. Los kits pueden incluir, por ejemplo, una tira reactiva recubierta con un anticuerpo que reconoce la proteína, soluciones de lavado, reactivos para realizar el ensayo, medios de aislamiento o purificación de proteínas, medios de detección, así como controles positivos y negativos. El kit también puede incluir instrucciones para usar los componentes del kit. El kit se puede adaptar para un uso en el hogar, uso clínico o uso en investigación.

5. Ejemplos

Los ejemplos siguientes se llevan a cabo usando técnicas convencionales, que son bien conocidas y rutinarias para los expertos en la técnica, excepto donde se describa de otro modo en detalle. Los ejemplos pretenden ser meramente ilustrativos.

5.1 Biomarcadores para la psoriasis en un análisis histológico

Las biopsias de la piel se evaluaron en 20 pacientes en un ensayo clínico, en donde 20 mg de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonyl)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida se administraron b.i.d. a pacientes con psoriasis. Las biopsias de la piel se realizaron 4 semanas y 12 semanas después del tratamiento.

Las biopsias fueron sometidas a un análisis histológico en el que se evaluó la respuesta en secciones de biopsias de la piel teñidas con H&E y después de la tinción de secciones congeladas de biopsias de la piel con anticuerpos para queratina 16, CD3, CD11c, ICAM-1, Langerina, CD56, Foxp3 y HLA-DR. Por tanto, este análisis incluía una evaluación del crecimiento/diferenciación epidérmica, infiltración de la piel con linfocitos T y subconjuntos de DCs, la presencia de linfocitos T reguladores y la presencia de moléculas reguladoras de la inflamación en lesiones de la piel.

De los 20 casos analizados, 19 mostraron lesiones de psoriasis buenas o activas en las biopsias de referencia. Uno tenía una epidermis mínimamente reactiva en la biopsia de lesión de referencia y por lo tanto no cumplía los criterios histológicos para una psoriasis vulgaris activa en la biopsia de referencia. El día 29, 10 casos mostraban una mejoría en la psoriasis, basándose en una reducción de la hiperplasia epidérmica y/o una reducción de la tinción de la queratina 16. Con el empleo de todos los valores de espesor medidos, había una reducción del 23% en el grosor epidérmico en la semana 4 ($p = 0,07$ o que se aproximaba a la significación estadística en un ensayo bilateral). Nueve casos mostraban una mejoría de la enfermedad en las biopsias del día 85, con 5 casos que mostraban ausencia de tinción de la queratina 16. En este punto de tiempo, la reducción media en el espesor epidérmico era del 34% (valor de $p = 0,049$). Por lo tanto, la reducción cuantitativa del grosor epidérmico era significativa para el grupo como un todo. Es poco usual que la psoriasis muestre una mejora espontánea, por lo que los 5 casos en los que la epidermis se convirtió en K16- (negativa para queratina 16) son altamente significativos en términos cualitativos.

En cuanto a los leucocitos que se infiltraban en estas biopsias, las reducciones de los linfocitos T se midieron en biopsias del día 29 y del día 85, pero la heterogeneidad de la respuesta no condujo a una significación estadística de las reducciones globales. CD11c marca las células dendríticas mieloides en la piel humana. Normalmente, hay una población residente de células CD11c+ en la dermis, pero la psoriasis muestra un aumento en DCs CD11c+ dérmicos.

- cas y una migración inapropiada de las células CD11c+ a la epidermis de las lesiones de la piel. DCs CD11c+ dérmicas se redujeron en las biopsias de la semana 4 y la semana 12, y la reducción media del 45% en las biopsias de la semana 4 era altamente significativa ($p = 0,001$). Los infiltrados de CD11c+ epidérmicos se redujeron aún más fuertemente (73-84%) en las semanas 4 y 12, respectivamente. Ambos grupos de reducciones eran altamente significativas (0,001 o mejores). Esto puede indicar que el compuesto de tratamiento tiene efectos supresores fuertes sobre los leucocitos mieloides, en comparación con los efectos sobre los linfocitos T. Las células CD56+ (células NK o células NK-T) se alteraron de forma mínima durante el tratamiento, es decir, entre la semana 4 y la semana 12. Un pequeño aumento en las células de Langerhans epidérmicas se observó en las biopsias del día 85, en consonancia con la normalización de esta población de células con una terapia eficaz.
- 10 La expresión de moléculas asociadas con la inflamación ICAM-1 y HLA-DR se redujo en paralelo con una mejora de la enfermedad que se reflejaba por el grosor epidérmico o la tinción de K16. Estos eran marcadores cualitativos de la inflamación, por lo que el cambio no se había cuantificado y se sometió a un análisis estadístico. Sin embargo, uno de los casos mostró un buen ejemplo de reducciones progresivas en la tinción de ICAM-1 y HLA-DR en paralelo con reducciones de la hiperplasia epidérmica.
- 15 La presencia de células Foxp3+ en la dermis de lesiones de la piel se redujo con el tiempo, en paralelo con reducciones de los linfocitos T. Uno de los casos mostró un buen ejemplo de este resultado. Esto sugiere que el mecanismo de acción está más relacionado con una supresión de la inflamación activa, en lugar de una supresión de la inflamación a través de un aumento de la población de linfocitos T Treg.

Los resultados observados en ciertos análisis histológicos se resumen a continuación:

20 Tabla 2

Medición histológica	Semana 4		Semana 12	
	% medio de cambio desde la línea de base	P	% medio de cambio desde la línea de base	P
DC mieloide CD11c en la dermis	-45,8	0,001	-54,6	0,363
DC mieloide CD11c en la epidermis	-73,1	0,001	-88,6	>0,001
Linfocitos T CD3 en la dermis	-24,5	0,82	-62,0	0,255
Linfocitos T CD3 en la epidermis	-35,0	0,286	-47,4	0,136
Linfocitos NK CD56 en la dermis	-27,6	0,544	-12,5	0,656
Linfocitos NK CD56 en la epidermis	-75,6	0,004	-73,3	0,499
Langerina en la dermis	-50,0	0,456	-57,9	0,474
Langerina en la epidermis	9,5	0,082	17,1	0,026
Espesor epidérmico	-22,9	0,070	-34,3	0,049

5.2 Biomarcadores en el análisis genómico

- La abundancia de ARNm para una variedad de moléculas inflamatorias se midió mediante RT-PCR en tiempo real y la expresión se normalizó a la del gen constitutivo de HARP (proteína ribosómica ácida humana). Los marcadores inflamatorios evaluados por los niveles de ARNm, incluían la quimiocina CXCL9, beta-defensina (DEFB4), interferón-

gamma, IL-10, IL-17a, IL-22, IL-8, queratina 16, MX-1, IL-12/23 p40, IL-23 p19, iNOS y TNF. Estas son moléculas inflamatorias producidas por las poblaciones de DCs activadas, linfocitos T Th1, Th17, Th22 y los genes de respuesta al interferón (MX-1, CXCL9) o IL-17 (defensina). La queratina 16 también se midió mediante los niveles de ARNm para evaluar la respuesta epidérmica por un medio alternativo.

- 5 En la semana 12, había una reducción media del ARNm de K16 del 78% ($p = 0,045$), lo que confirma la mejora global de la psoriasis tal como se evaluó por las mediciones del espesor de la epidermis en ese mismo punto de tiempo. La reducción del ARNm de K16 era de una magnitud más elevada que la reducción del espesor de la epidermis, ya que esta queratina se produce solo en la epidermis reactiva (hiperplásica). La epidermis normal tiene un valor de espesor, de modo que el caso máximo para una reducción del espesor frente a valores normales.
- 10 A partir del análisis histológico, los leucocitos mieloides CD11c+ mostraban unas reducciones más consistentes que los linfocitos T en las lesiones. Desde el punto de vista genómico, los genes de iNOS, p40 y p19 son productos de DCs inflamatorias (CD11c+). Una expresión normalizada del ARNm de iNOS se redujo en un 61% en la semana 4 ($p = 0,015$) y en un 100% en la semana 12 ($p = 0,005$). Esto es consistente con el mecanismo de fármaco central para reducir el TNF bioactivo en las lesiones inflamatorias de la piel.
- 15 Otro gen inducido con TNF en las DCs CD11c+ es el gen de IL-12/23 p40. Un conjunto de sondas personalizadas de p40 mostraba reducciones significativas en biopsias de la semana 4 y la semana 12. Sin estar limitados por una teoría particular, la predicción de esta reducción es que los niveles de IL-12 y/o IL-23 se reducirían, con reducciones posteriores en la activación de linfocitos T Th1, Th17 y Th22, seguido por reducciones de genes aguas abajo de IL-17 o de la señalización del interferón. Los niveles de ARNm de IL-17A normalizados se redujeron en un 49% en la semana 12 ($p = 0,023$) y los niveles de ARNm de IL-22 normalizados se redujeron en un 100% en la semana 12 ($p = 0,001$).

25 DEFB4 es una defensina inducida en los queratinocitos a través de IL-17. Una expresión normalizada de DEFB4 se redujo en un 47% en las biopsias de la semana 4 ($p = 0,036$) y en un 45% en las de la semana 12 ($p = 0,011$). IL-8 también se induce en los queratinocitos a través de IL-17. Una expresión normalizada de esta quimiocina inflamatoria se redujo en un 76% en las biopsias de la semana 4 ($p = 0,001$) y en un 66% en las biopsias de la semana 12 ($p = 0,017$). Sin estar limitados por una teoría particular, la reducción de mayor magnitud en IL-8 (en comparación con DEFB4), probablemente refleja la regulación conjunta de IL-8 a través de TNF y el hecho de que la señalización de TNF probablemente se reduce por el fármaco del estudio.

30 Una reducción del ARNm normalizado de MX-1 en las biopsias también se observó de forma consistente: una reducción media del 51% en la semana 4 ($p = 0,005$) y una reducción del 52% en la semana 12 ($p < 0,001$). Esto probablemente refleja una reducción de otros interferones (interferones de tipo 1) que no se midieron directamente por sondas genómicas.

Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 3

ARNm	Semana 4		Semana 12	
	% medio de cambio desde la línea de base (normalizado a hARP)	P	% medio de cambio desde la línea de base (normalizado a hARP)	P
IL-12/IL-23 p40	-100	0,003	-86,7	0,023
iNOS	-61,0	0,015	-100	0,005
IL-22	-74,4	0,900	-100	0,001
IL-8	-76,4	0,001	-66,5	0,017
DEFB4	-55,4	0,032	-82,3	0,002
MX-1	-51,1	0,005	-52,6	<0,001
K-16	-62,0	0,143	-78,6	0,045

ARNm	Semana 4		Semana 12	
	% medio de cambio desde la línea de base (normalizado a hARP)	P	% medio de cambio desde la línea de base (normalizado a hARP)	P
IL-17A	-72,5	0,091	-49,4	0,023
IL-23p19	-53,4	0,333	-68,3	0,257
IL-10	-49,1	0,871	-26,5	0,912
IFN-g	-38,2	0,221	-37,6	0,812
CXCL9 (MIG)	-30,7	0,701	-36,4	0,538

5.3 Tratamiento de la psoriasis

Los efectos farmacodinámicos de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida se estudiaron en biopsias de la piel procedentes de sujetos tratados con el compuesto en un estudio de fase 2, multicéntrico, abierto para evaluar la seguridad, la tolerabilidad y la eficacia del compuesto en psoriasis vulgaris recalcitrante. Se realizaron biopsias cutáneas de piel no afectada y afectada en la línea base y de piel afectada después del tratamiento con 20 mg BID de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida después de 4 y 12 semanas.

Las biopsias de la piel se evaluaron en 20 pacientes en este ensayo. Las biopsias se analizaron mediante inmunohistoquímica de un conjunto de marcadores celulares (queratina 16, CD3, CD11c, ICAM-1, Langerina, CD56, Foxp3 y HLA-DR) para evaluar el crecimiento/diferenciación epidérmica, la infiltración de la piel con linfocitos T y células dendríticas (DC), la presencia de linfocitos T reguladores y la presencia de moléculas reguladoras de la inflamación en las lesiones de la piel.

La tinción de anticuerpos para ICAM-1, Foxp3 y HLA-DR era cualitativa y no se observaron grandes cambios para estos marcadores. En general, hubo una reducción importante de DCs CD11c+ mieloides inflamatorias, también denominadas TIP-DCs (DCs productoras de TNF e iNOS) en la epidermis (FIG. 1) y la dermis (FIG. 3), tanto en la semana 4 como en la semana 12. En particular, como se muestra en la FIG. 1, la infiltración patológica de la epidermis psoriásica con DC meloide se inhibió más fuertemente. También hubo reducciones significativas en los linfocitos T CD3+ en la epidermis y la dermis y en las células NK CD56+ en la epidermis.

Además, las reducciones observadas a partir de biopsias se evaluaron por separado en respondedores y no respondedores. En general, las reducciones en los infiltrados celulares en la epidermis (FIG. 2) y la dermis (FIG. 4) eran mayores entre los respondedores (aquellos con un cambio en PASI del 75% o más en la semana 12) que entre los no respondedores. Langerina, un marcador de las células de Langerhans (LC), estaba ligeramente elevado en la epidermis (FIG. 1), pero no en la dermis (FIG. 3), aunque este efecto no era estadísticamente significativo, era atribuible principalmente al aumento de las LC en la epidermis entre los no respondedores (FIG. 2).

La expresión de productos génicos proinflamatorios conocidos por estar implicados en la patogénesis de la psoriasis se midió mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR). Con respecto a la expresión génica, había reducciones en los ARNm de iNOS e IL-12/IL-23 p40, junto con reducciones en los ARNm de IL-17A e IL-22, indicando una inhibición de las rutas de Th1, Th17 y Th22 (FIG. 5). Los niveles del ARNm de IL-12/ 23 p40 mostraban reducciones significativas en las biopsias de la semana 4 y la semana 12. Los niveles de ARNm normalizado de IL-17A se redujeron en un 49% en la semana 12 y los niveles del ARNm normalizado de IL-22 se redujeron en un 100% en la semana 12. DEFB4, una defensina inducida en los queratinocitos a través de IL-17, se redujo en un 55% en las biopsias de la semana 4 y en un 82% en las biopsias de la semana 12. IL-8, que se induce en los queratinocitos a través de IL-17, se redujo en un 76% en las biopsias de la semana 4 y en un 66% en las biopsias de la semana 12.

Además, se evaluó la reducción de la expresión génica por separado en respondedores y no respondedores. En general, la inhibición de la expresión génica era mayor entre los respondedores que los no respondedores (FIG. 6). Los resultados de este análisis apoyan fuertemente la actividad biológica de (S)-N-(2-(1-(3-etoxi-4-metoxifenil)-2-(metilsulfonil)etil)-1,3-dioxoisindolin-4-il)acetamida en la psoriasis vulgaris a través de un mecanismo que implica la inhibición de las células dendríticas mieloides y la supresión de genes que contribuyen a las rutas proinflamatorias

de Th1, Th17 y Th17.

5.4 Correlación de los cambios en la infiltración celular y la expresión génica con la puntuación PASI

Para identificar los cambios en la infiltración celular o la expresión génica que se correlacionan con cambios en la puntuación PASI, se realizó un análisis de correlación utilizando el método de correlación del orden de los rangos de Spearman. Como se muestra en la Tabla 4, se observó una correlación significativa entre la disminución de las células NK CD56+ en la epidermis y la disminución en la puntuación PASI en la semana 4 ($p = 0,009$). Se observó una fuerte tendencia entre la disminución de DCs mieloides CD11c+ en la epidermis y la disminución de la puntuación PASI en la semana 4 ($p = 0,052$).

Tabla 4. Correlación de los cambios porcentuales desde la línea base (semana 0) en la puntuación de PASI y los parámetros asociados con la biopsia de la piel

Prueba	Semana	Nº*	Cambio medio de PASI (%)	Cambio medio de parámetros de la biopsia (%)	Coefficiente de correlación de orden de rangos de Spearman	Valor de p**
CD3 en la dermis	4	19	-29,0	-24,5	-0,143	0,559
	12	15	-48,0	-63,1	0,211	0,451
CD3 en la epidermis	4	19	-29,0	-35,0	0,044	0,858
	12	15	-48,0	-56,1	0,304	0,271
CD11c en la dermis	4	20	-32,0	-45,8	0,302	0,196
	12	14	-52,5	-56,0	0,073	0,805
CD11c en la epidermis	4	18	-26,5	-73,1	0,465	0,052
	12	13	-45,0	-97,5	0,448	0,125
CD56 en la dermis	4	20	-32,0	-27,6	0,232	0,326
	12	15	-48,0	-18,2	0,432	0,108
CD56 en la epidermis	4	16	-15,0	-75,6	0,631	0,009
	12	12	-42,5	-77,6	0,189	0,557
Langerina en la dermis	4	17	-18,0	-50,0	0,465	0,06
	12	12	-54,0	-67,0	0,416	0,178
Langerina en la epidermis	4	20	-32,0	9,49	0,336	0,148
	12	15	-48,0	41,67	0,289	0,296
Espesor	4	19	-29,0	-22,9	0,051	0,836
	12	14	-46,5	-34,8	0,341	0,233

* Se incluyeron sujetos con valores tanto para el % de cambio de PASI como el % de cambio de los parámetros de la biopsia

** el valor de p es para analizar la falta de correlación en los % de cambios de orden de rangos

5 Como se muestra a continuación en la Tabla 5, entre los cambios de la expresión génica y el cambio de PASI en la semana 4, había una correlación significativa para DEFB4 ($p = 0,005$), MX-1 ($p = 0,008$) e IL-12/IL-23 p40 ($p = 0,033$). En la semana 12, había una correlación significativa entre el descenso de la puntuación PASI y la caída de la expresión de DEFB4 ($p = 0,009$), IL-17A ($p = 0,03$), K16 ($p = 0,001$) e iNOS ($p = 0,033$). En la semana 12, también se observó una fuerte tendencia para la disminución de la puntuación PASI y la expresión de IL-8 ($p = 0,051$) (Tabla 14.2.20.4).

Tabla 5. Correlación de los cambios porcentuales desde la línea base (semana 0) en la puntuación PASI y la expresión génica de los biomarcadores inflamatorios asociados

Prueba	Semana	Nº*	Cambio medio de PASI (%)	Cambio medio de la expresión génica (%)	Coefficiente de correlación de orden de rangos de Spearman	Valor de p**
CD83/hARP	4	15	-18,0	-12,4	-0,097	0,732
	12	11	-48,0	27,39	0	1
CXCL9/hARP	4	17	-29,0	-30,7	0,286	0,266
	12	11	-48,0	-15,8	0,182	0,593
DEFB4/hARP	4	16	-23,5	-55,4	0,669	0,005
	12	10	-46,5	-82,0	0,769	0,009
IFN γ /hARP	4	15	-35,0	-38,2	0,448	0,094
	12	12	-54,0	-15,3	-0,376	0,185
IL-10/hARP	4	18	-32,0	-49,1	-0,018	0,945
	12	14	-54,0	-15,3	-0,376	0,185
IL-17A/hARP	4	16	-23,5	-72,5	0,424	0,102
	12	10	-46,5	-46,7	0,681	0,03
IL-2/hARP	4	12	-32,0	3,33	-0,358	0,253
	12	10	-54,0	-25,0	0,091	0,802
IL-22/hARP	4	10	-18,5	-74,4	0,323	0,363
	12	6	-46,5	-100	0,135	0,798
IL-8/hARP	4	18	-32,0	-76,4	0,076	0,763
	12	14	-54,0	-79,2	0,53	0,051
K16/hARP	4	18	-32,0	-62,0	0,419	0,084
	12	14	-54,0	-82,5	0,798	0,001
MX1/hARP	4	17	-29,0	-51,1	0,62	0,008

Prueba	Semana	Nº*	Cambio medio de PASI (%)	Cambio medio de la expresión génica (%)	Coefficiente de correlación de orden de rangos de Spearman	Valor de p**
	12	11	-48,0	-51,5	0,018	0,958
p40/hARP	4	13	-29,0	-100	0,593	0,033
	12	7	-48,0	-51,5	0,018	0,958
TNF α /hARP	4	17	-29,0	-13,0	-0,307	0,231
	12	13	-60,0	-41,3	-0,049	0,873
iNOS/hARP	4	15	-35,0	-61,0	0,465	0,067
	12	11	-48,0	-100	0,642	0,033
p19/hARP	4	18	-32,0	-53,4	0,182	0,47
	12	14	-54,0	-67,9	0,411	0,144

* Se incluyeron sujetos con valores tanto para el % de cambio de PASI como el % de cambio de los parámetros de la biopsia

** el valor de p es para analizar la falta de correlación en los % de cambios de orden de rangos

Además, con el fin de identificar los cambios específicos en la infiltración celular o la expresión génica en la semana 4, que podrían predecir una eventual respuesta clínica tal y como se definía por un PASI-75 o mayor en la semana 12, se realizó un análisis de correlación de Spearman de orden de rangos. Por ejemplo, si la relación IFN- γ /hARP disminuía en -70% a -100% en la semana 4, se predecía que el sujeto iba a tener una respuesta PASI-75; de lo contrario, ninguna respuesta PASI-75. A partir de este análisis, se encontró una correlación significativa entre el cambio en la expresión de IFN- γ en la semana 4 y un cambio posterior en la puntuación de PASI en la semana 12 ($p = 0,04$) (FIG. 7). Como se muestra en la FIG. 7, entre cuatro sujetos que tenían respuesta PASI-75 en la semana 12, tres mostraron un cambio de IFN- γ entre -70% a -100% en la semana 4, lo que indicaba un 75% de exactitud en este modelo de predicción. En efecto, los tres sujetos que lograron un PASI-75 o mejor en la semana 12, mostraban un 100% de reducción de la expresión génica de IFN- γ en la piel en la semana 4. Además, los ocho sujetos que no habían mostrado una respuesta PASI-75 en la semana 12, mostraban un cambio de IFN- γ que era inferior a una disminución del 70%, lo que indicaba un 100% de precisión.

Como alternativa, el análisis se puede ajustar para designar que la respuesta PASI-75 sea un cambio en la expresión de IFN γ entre -60% y -100%. Cuando se llevó a cabo este análisis, la precisión de la predicción era de aproximadamente un 75% para la respuesta PASI-75 y un 80% para la falta de respuesta PASI-75, respectivamente. Por lo tanto, la supervisión de un sujeto en relación con una disminución en la expresión de IFN- γ en la piel o la sangre periférica, puede proporcionar un método de predicción temprana de un eventual logro de una respuesta clínica beneficiosa.

Otro marcador predictivo útil puede ser la reducción de la cantidad de Langerina (un marcador de las células de Langerhans o LC) en la dermis en la semana 4. Al igual que en el análisis del IFN γ , si la tinción de la Langerina en la dermis disminuía en un -70% a -100% en la semana 4, se predijo que el sujeto tendría una respuesta PASI-75; de lo contrario no habría respuesta PASI-75. Como se muestra en la FIG. 8, de los cuatro sujetos que tenían respuesta PASI-75 en la semana 12, tres mostraron un cambio de la Langerina entre -70% a -100% en la semana 4, lo que indicaba una precisión del 75% en este modelo de predicción. Además, nueve de los diez sujetos que no tenían respuesta PASI-75 en la semana 12, mostraron un cambio de Langerina menor de un 70% de disminución, lo que indica un 90% exactitud.

REIVINDICACIONES

1. Un método para predecir si un paciente será sensible a un tratamiento para la psoriasis que comprende:
 - cultivar células procedentes de una muestra de piel del paciente en presencia o ausencia del compuesto de tratamiento;
- 5 medir el nivel de un marcador celular o ARNm; y
 - comparar el nivel del marcador celular o el ARNm en las células cultivadas en presencia del compuesto de tratamiento con el de las células cultivadas en ausencia del compuesto de tratamiento;
- en donde el compuesto de tratamiento es {2-[(1*S*)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico, y
- 10 en donde una disminución del nivel del marcador celular o del ARNm en presencia del compuesto de tratamiento indica la probabilidad de una respuesta eficaz del paciente frente al compuesto de tratamiento,
 - en donde el marcador celular se selecciona a partir CD3, CD56, Foxp3, Langerina y una combinación de los mismos; o
- 15 en donde el ARNm se selecciona a partir de ARNm para queratina 16, IL-12/IL-23 p40, IL-23 p19, IL-17A, IL-22, DEFB4, IL-8, MX-1, IL-10, IFN- γ , CXCL9 y una combinación de los mismos.
2. El método según la reivindicación 1, en donde (i) se supervisa el nivel de solo uno de los marcadores celulares o de los ARNm, o (ii) se supervisan simultáneamente los niveles de dos o más de los marcadores celulares o de los ARNm.
3. Un método para supervisar la respuesta de un paciente frente a un tratamiento para la psoriasis que comprende:
 - 20 medir el nivel de un marcador celular o un ARNm en una primera muestra de piel procedente del paciente;
 - medir el nivel del mismo marcador celular o ARNm en una segunda muestra de piel obtenida después de administrar un compuesto de tratamiento al paciente; y
 - comparar los niveles de marcador celular o ARNm obtenidos a partir de la primera y la segunda muestras de piel;
- 25 en donde el compuesto de tratamiento es {2-[(1*S*)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico, y
 - en donde una disminución del nivel del marcador celular en la segunda muestra de piel indica una respuesta eficaz,
 - en donde el marcador celular se selecciona a partir CD3, CD56, Foxp3, Langerina y una combinación de los mismos; o
- 30 en donde el ARNm se selecciona a partir de ARNm para queratina 16, IL-12/IL-23 p40, IL-23 p19, IL-17A, IL-22, DEFB4, IL-8, MX-1, IL-10, IFN- γ , CXCL9 y una combinación de los mismos.
4. El método según la reivindicación 3, en donde el nivel de CD3 obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa, y la disminución es de aproximadamente 15%, 20%, 25% o 30% o más en comparación con el nivel de CD3 en la primera muestra de piel.
- 35 5. El método según la reivindicación 3, en donde el nivel de CD3 obtenido a partir de la región de la epidermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 25%, 30%, 35% o 40% o más en comparación con el nivel de CD3 en la primera muestra de piel.
6. El método según la reivindicación 3, en donde el nivel de CD56 obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 15%, 20%, 25% o 30% o más en comparación con el nivel de CD56 en la primera muestra de piel.
- 40 7. El método según la reivindicación 3, en donde el nivel de CD56 obtenido a partir de la región de la epidermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 60%, 65%, 70% o 75% o más en comparación con el nivel de CD56 en la primera muestra de piel.
8. El método según la reivindicación 3, en donde el nivel de Langerina obtenido a partir de la región de la dermis se supervisa y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel de Langerina en la primera muestra de piel.
- 45 9. Un método para supervisar el cumplimiento del paciente de un protocolo de tratamiento con fármacos para la

psoriasis, que comprende:

medir el nivel de un marcador celular o un ARNm en una muestra de piel del paciente; y

determinar si el nivel de expresión ha disminuido en la muestra de piel en comparación con el nivel de expresión en una muestra de control no tratada;

- 5 en donde el protocolo de tratamiento con fármacos comprende administrar {2-[(1*S*)-1-(3-etoxi-4-metoxi-fenil)-2-metanosulfonil-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoindol-4-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico al paciente, y
en donde una disminución de la expresión indica el cumplimiento del paciente de dicho protocolo de tratamiento con fármacos
- 10 en donde el marcador celular se selecciona a partir CD3, CD56, Foxp3, Langerina y una combinación de los mismos; o
en donde el ARNm se selecciona a partir del ARNm para queratina 16, IL-12/IL-23 p40, IL-23 p19, IL-17A, IL-22, DEFB4, IL-8, MX-1, IL-10, IFN- γ , CXCL9 y una combinación de los mismos.
10. El método según la reivindicación 3 o 9, en donde
- 15 (i) el nivel del ARNm de IL-12/IL-13 p40 se supervisa y la disminución es de aproximadamente 80%, 85%, 90% o 95% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-12/IL-13 p40 en la primera muestra de piel;
- (ii) el nivel del ARNm de IL-22 se supervisa y la disminución es de aproximadamente 65%, 70%, 75% o 80% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-22 en la primera muestra de piel;
- (iii) el nivel del ARNm de IL-8 se supervisa y la disminución es de aproximadamente 65%, 70%, 75% o 80% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-8 en la primera muestra de piel;
- 20 (iv) el nivel del ARNm de DEFB4 se supervisa y la disminución es de aproximadamente 45%, 50%, 55% o 60% o más en comparación con el nivel del ARNm de DEFB4 en la primera muestra de piel;
- (v) el nivel del ARNm de MX-1 se supervisa y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel del ARNm de MX-1 en la primera muestra de piel;
- 25 (vi) el nivel del ARNm de queratina 16 se supervisa y la disminución es de aproximadamente 50%, 55%, 60% o 65% o más en comparación con el nivel del ARNm de queratina 16 en la primera muestra de piel;
- (vii) el nivel del ARNm de IL-17A se supervisa y la disminución es de aproximadamente 60%, 65%, 70% o 75% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-17A en la primera muestra de piel;
- (viii) el nivel del ARNm de IL-23 p19 se supervisa y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-23 p19 en la primera muestra de piel;
- 30 (ix) el nivel del ARNm de IL-10 se supervisa y la disminución es de aproximadamente 40%, 45%, 50% o 55% o más en comparación con el nivel del ARNm de IL-10 en la primera muestra de piel;
- (x) el nivel del ARNm de IFN- γ se supervisa y la disminución es de aproximadamente 30%, 35%, 40% o 45% o más en comparación con el nivel del ARNm de IFN- γ en la primera muestra de piel; o
- 35 (xi) el nivel del ARNm de CXCL9 se supervisa y la disminución es de aproximadamente 20%, 25%, 30% o 35% o más en comparación con el nivel del ARNm de CXCL9 en la primera muestra de piel.

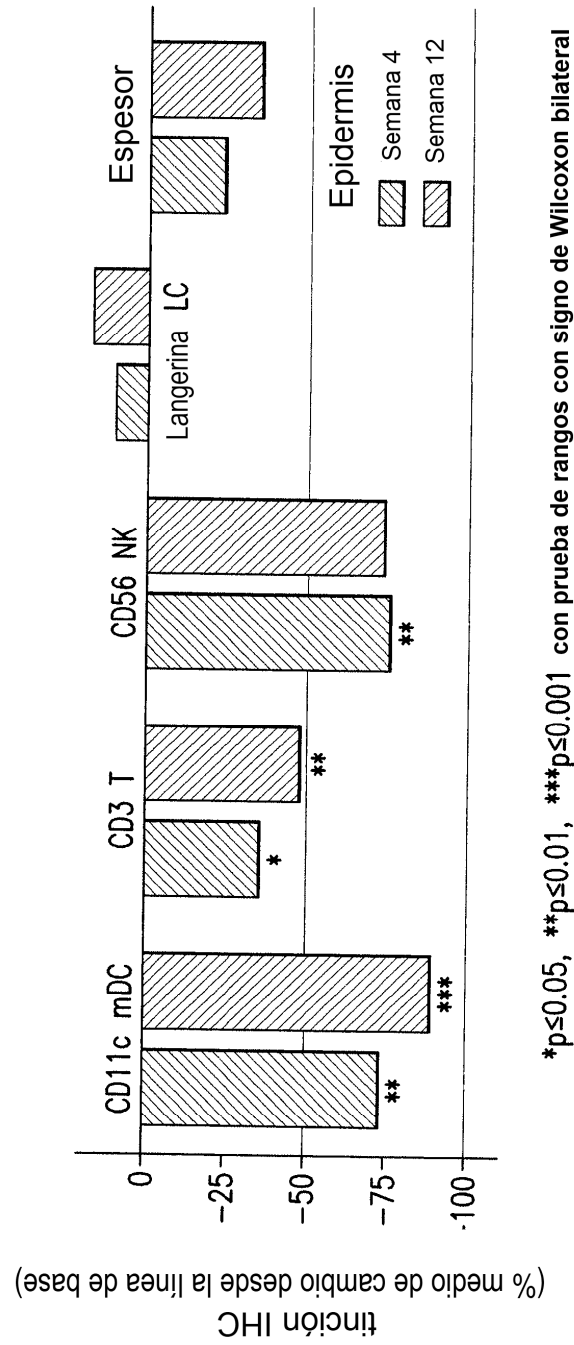
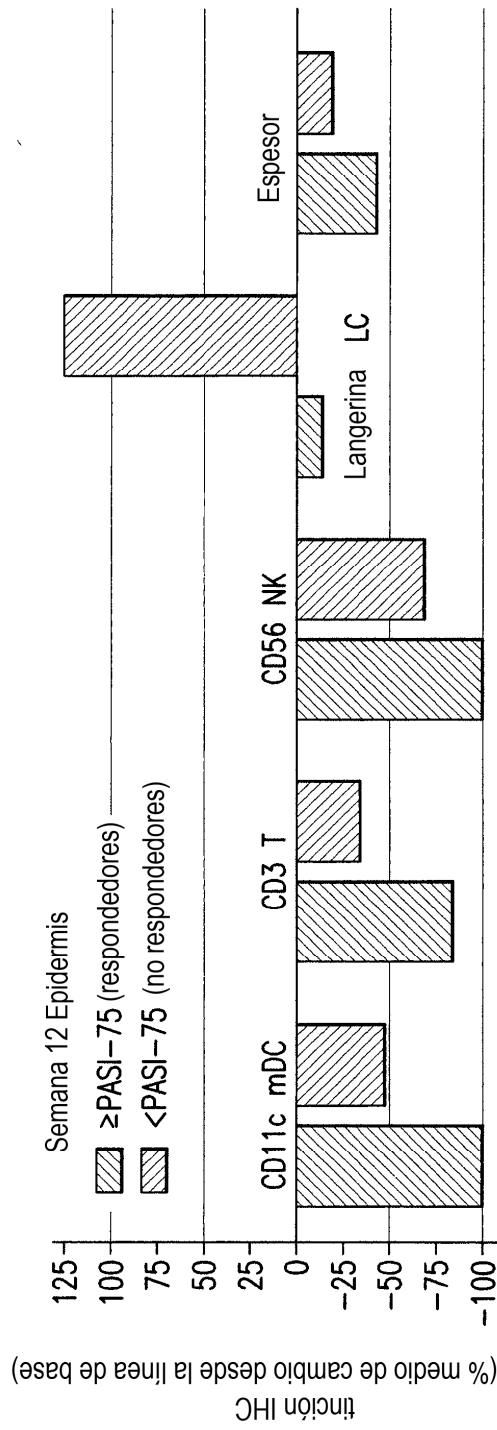
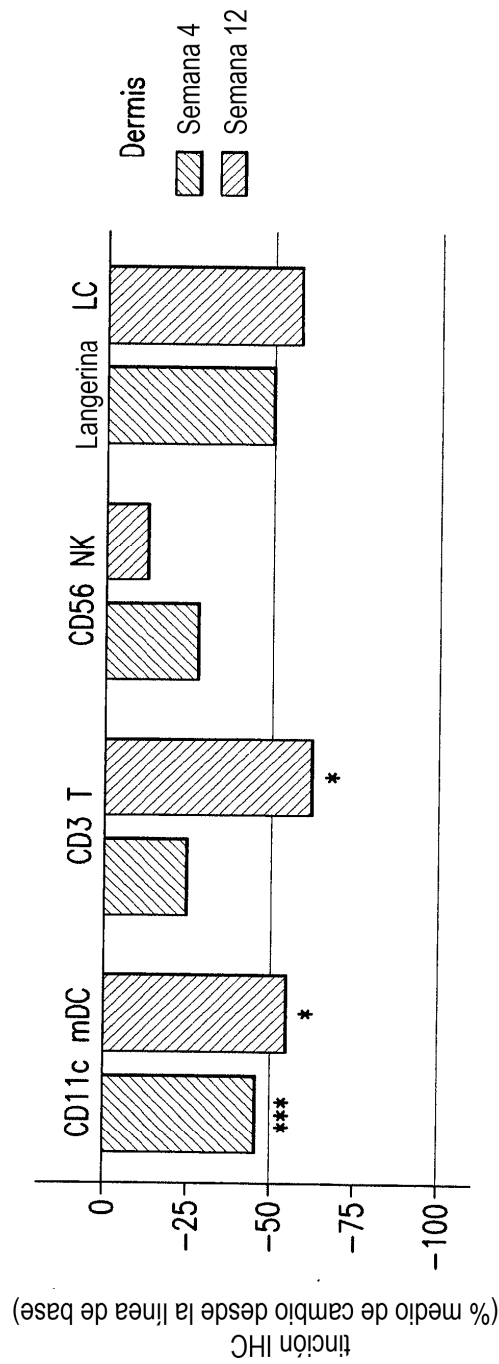


FIG. 1





* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ con prueba de rango con signos de Wilcoxon bilateral

FIG. 3

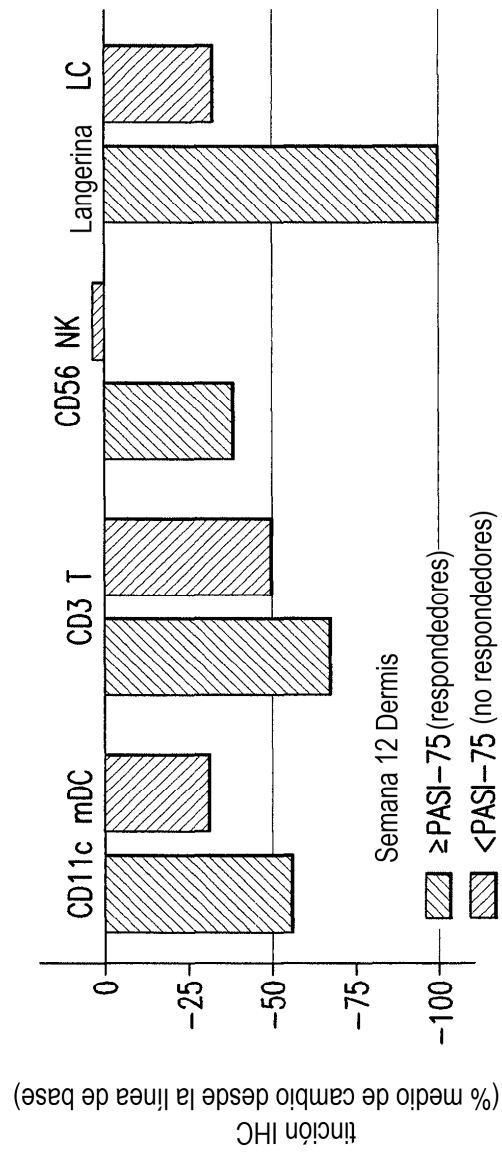
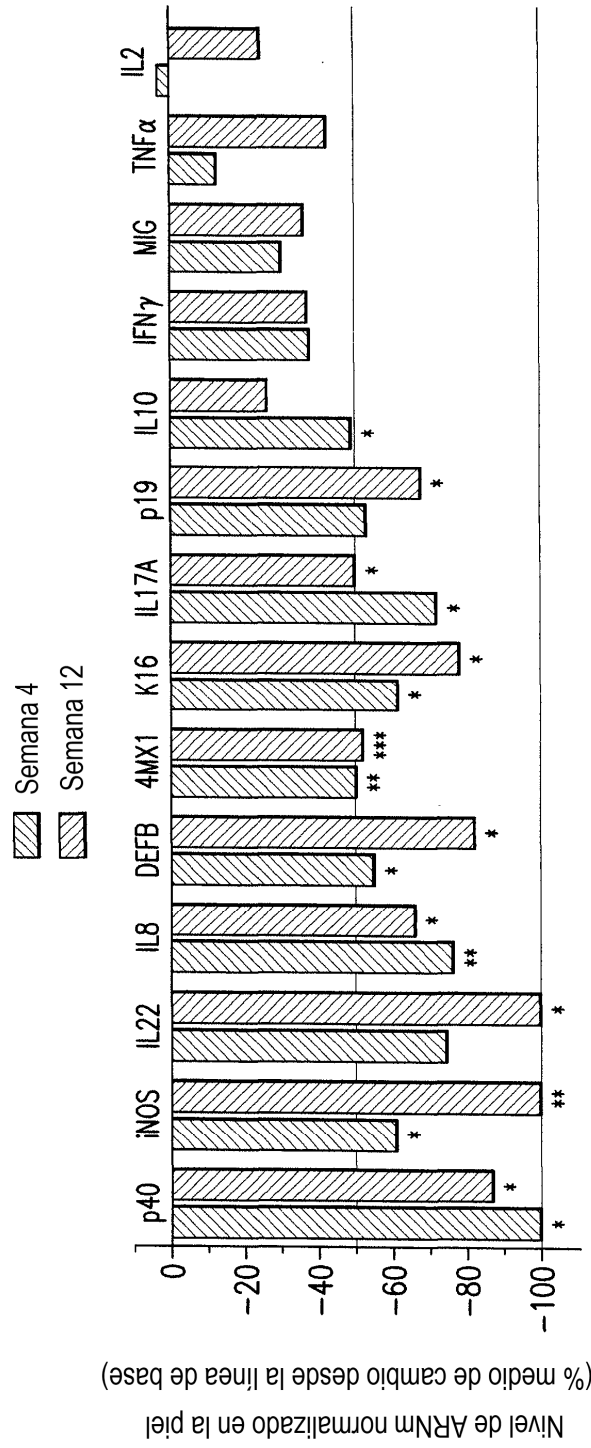


FIG. 4



*p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001 con prueba de rango con signos de Wilcoxon bilateral

FIG. 5

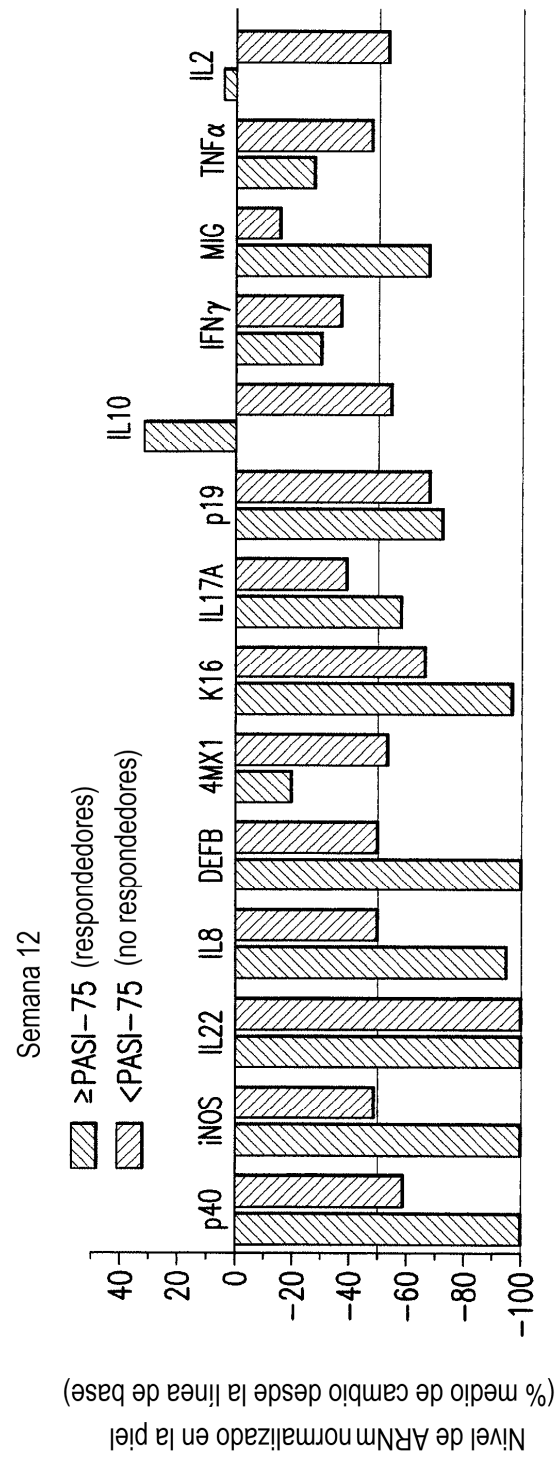


FIG. 6

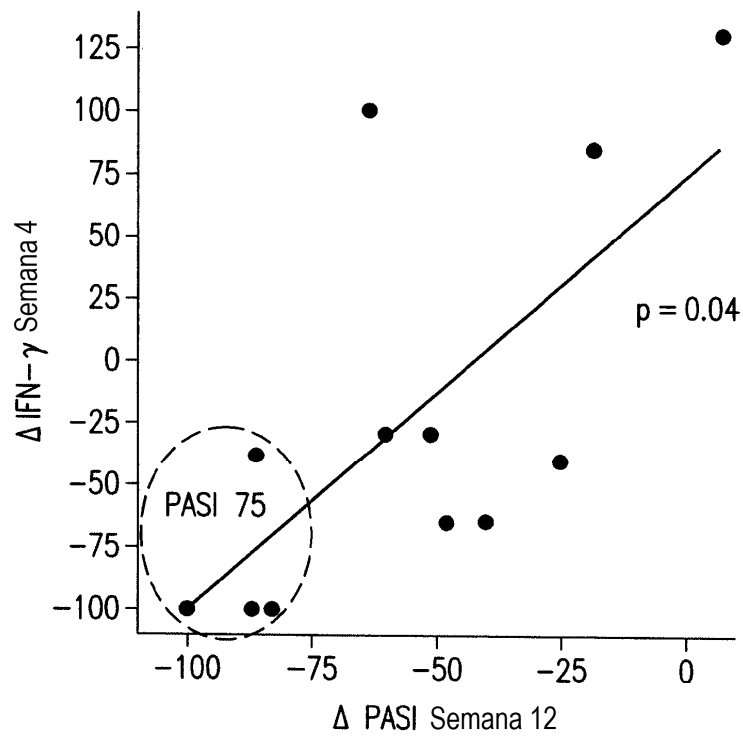


FIG. 7

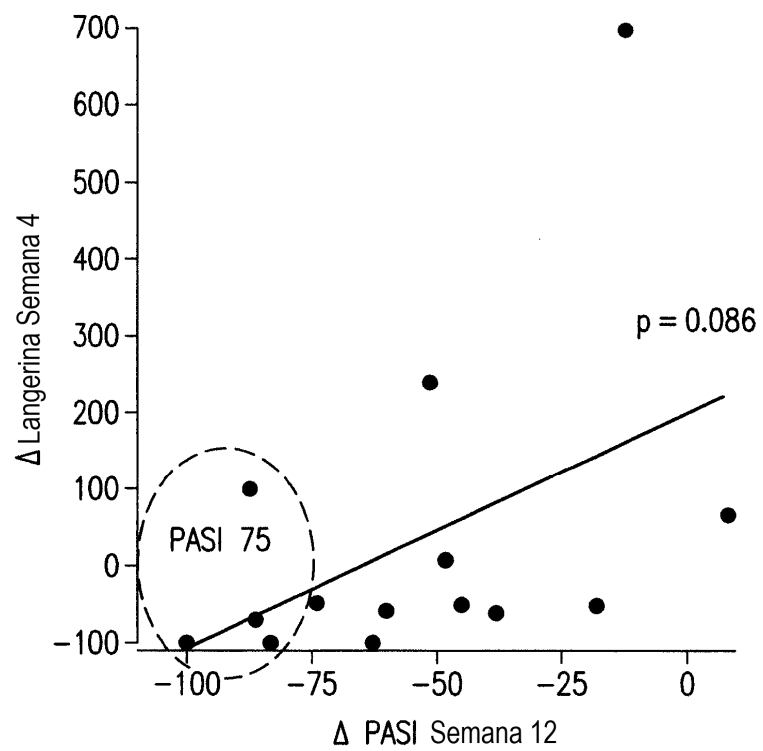


FIG. 8