

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 808 781**

51 Int. Cl.:

A61K 31/165 (2006.01)
A61K 31/436 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.02.2016 PCT/IL2016/050134**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **11.08.2016 WO16125169**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.02.2016 E 16746247 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 3253733**

54 Título: **Combinaciones de moduladores duales de IRS/STAT3 y agentes anticancerígenos para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

05.02.2015 US 201562112257 P
22.03.2015 US 201562136530 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.03.2021

73 Titular/es:

TYRNOVO LTD. (100.0%)
One Azrieli Center, Round Tower, 23rd Floor, 132
Menachem Begin Road
6701101 Tel Aviv, IL

72 Inventor/es:

REUVENI, HADAS;
HAVIV, IZHAK y
KUPERSHMIDT, LANA

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

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

ES 2 808 781 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

Combinaciones de moduladores duales de IRS/STAT3 y agentes anticancerígenos para el tratamiento del cáncer

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se limita estrictamente a la definición proporcionada en las reivindicaciones adjuntas. Otros artículos etiquetados a continuación como realizaciones o aspectos de la invención que no entran dentro del alcance de las reivindicaciones son meramente ilustrativos y con el único propósito de divulgación. En lo que sigue, la descripción se refiere al tratamiento del cáncer usando una terapia combinada que comprende un modulador doble del sustrato receptor de insulina (IRS) y un transductor de señal y activador de la transcripción 3 (Stat3), en combinación con (i) un modulador de una quinasa de proteína (PK) seleccionada de un inhibidor de factor de crecimiento epidérmico (inhibidor de EGFR) y anticuerpo EGFR; (ii) un inhibidor de la diana de rapamicina en mamíferos (mTOR); (iii) un inhibidor de la quinasa de proteína mitogénica (MEK); (iv) un inhibidor de B-Raf mutada; (v) un agente quimioterapéutico como gemcitabina, 5-FU, irinotecán y oxaliplatino; y (vi) ciertas combinaciones de los mismos. La combinación se puede usar para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor de EGFR, anticuerpo EGFR, inhibidor de mTOR, inhibidor de MEK, inhibidor de B-Raf mutada, agentes quimioterapéuticos y ciertas combinaciones de los mismos, o para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a cualquiera de dichos inhibidores o agentes, o para prevenir la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con cualquiera de dichos inhibidores o agentes o una combinación de los mismos. La combinación proporciona un efecto terapéutico que es al menos aditivo, y preferiblemente es sinérgico. La presente invención se refiere además al tratamiento del cáncer usando una terapia combinada que comprende un modulador dual de IRS y Stat3, en combinación con un agente de inmunoterapia. La combinación se puede usar para sensibilizar un tumor a la inmunoterapia.

25

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] Las tirfostinas son una familia de inhibidores de la proteína tirosina quinasa, diseñadas para imitar el sustrato de tirosina, el ATP y pueden inhibir alostéricamente la enzima (Levitzki et al., Science (1995), 267: 1782-88; Levitzki et al., Biochem. Pharm. (1990), 40: 913-920; Levitzki et al., FASEB J. (1992), 6: 3275-3282; Patentes de EE.UU. N^{os} 5.217.999 y 5.773.476, Posner et al., Mol. Pharmacol. (1994), 45: 673-683). Los farmacóforos de estas tirfostinas, y en particular de las tirfostinas del tipo bencilideno malonitrilo, son el anillo de catecol hidrofílico y el radical cianovinilo sustituido más lipofílico. Los estudios cinéticos han demostrado que algunos compuestos de tirfostina son inhibidores competitivos puros frente a sustratos de tirosina, mientras que para el sitio de unión a ATP actúan como inhibidores no competitivos (Yaish et al., Science (1988), 242: 933-935; Gazit y col., J. Med. Chem. (1989), 32: 2344-2352). Sin embargo, muchas tirfostinas han mostrado inhibición competitiva contra el sustrato y el sitio de unión a ATP o competitiva mixta (Posner y col., Mol. Pharmacol. (1994), 45: 673-683).

[0003] En un grupo relacionado de tirfostinas, el anillo catecol hidrófilo se intercambió por grupos dicloro- o dimetoxifenilo lipófilos, para producir inhibidores de quinasa EGFR, eficaces en el intervalo micromolar bajo (Yoneda et al., Cancer Res. (1991), 51: 4430-4435). Estas tirfostinas se administraron adicionalmente a ratones desnudos portadores de tumores junto con anticuerpos monoclonales anti-EGFR a una dosis subóptima para proporcionar una inhibición marcadamente mejorada del crecimiento tumoral.

[0004] El documento WO 2008/068751 para algunos de los inventores de la presente invención, describe compuestos que tienen un aumento de las propiedades inhibitorias del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF1R), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y activación y señalización del receptor de insulina (IR) relacionado con IGF1R.

[0005] El documento WO 2009/147682 para algunos de los inventores de la presente invención describe compuestos que actúan como moduladores de señalización de quinasa de proteína (PK) y quinasa de receptor (RK). En el documento WO 2009/147682 se describen además métodos de preparación de tales compuestos, composiciones farmacéuticas que incluyen tales compuestos, y métodos para usar estos compuestos y composiciones, especialmente como agentes quimioterapéuticos para la prevención y el tratamiento de trastornos relacionados con PK y RK, tales como metabolismo, inflamación, fibróticos y trastornos proliferativos celulares, en particular cáncer.

[0006] El documento WO 2012/117396 para algunos de los inventores de la presente invención describe combinaciones de los compuestos de WO 2008/068751 o WO 2009/147682 con agentes anticancerígenos para el tratamiento del cáncer.

[0007] Los cánceres tratados con radio o quimio-terapia convencional u otros agentes contra el cáncer con frecuencia desarrollan resistencia a estos tratamientos, en última instancia conduce a la enfermedad recurrente que a menudo tiene un fenotipo más agresivo que la observada en el momento del diagnóstico inicial (Li et al., J. Med. Chem. (2009), 52 (16): 4981-5004).

[0008] De acuerdo con principios para la selección de agentes para su uso en regímenes de quimioterapia de

combinación, fármacos con diferentes mecanismos de acción y con efectos citotóxicos aditivos o sinérgicos sobre el tumor pueden ser combinados (Pazdur et al, Capítulo 3: Principles of Oncologic Pharmacotherapy (2005), 9ª edición: 23-42). La terapia con múltiples agentes tiene tres ventajas teóricas importantes sobre la terapia con un solo agente. Primero, puede maximizar la muerte celular mientras minimiza las toxicidades del huésped mediante el uso de agentes con toxicidades limitantes de dosis que no se superponen. En segundo lugar, puede aumentar el rango de actividad farmacológica contra las células tumorales con resistencia endógena a tipos específicos de terapia. Finalmente, también puede prevenir o retrasar el desarrollo de células tumorales recientemente resistentes. Prácticamente, casi todos los regímenes de quimioterapia curativa para el cáncer emplean combinaciones de fármacos de múltiples agentes (Frei y Eder, Cancer medicine (2003), 11: 817-837).

[0009] Una familia de agentes contra el cáncer relativamente nuevos son inhibidores (por ejemplo, anticuerpos y pequeñas moléculas) de específicos quinasas u otras enzimas de señalización implicadas en las rutas mitogénicas, anti-apoptóticas, angiogénicas o metastásicas en las células cancerosas. Ejemplos de medicamentos aprobados incluidos en esta familia son los bloqueadores EGFR y/o HER2 (por ejemplo, las moléculas pequeñas gefitinib, erlotinib, lapatinib o anticuerpos como trastuzumab (Herceptin®) y cetuximab (Frbix®)), inhibidores de B-Raf (por ejemplo, PLX- 4032, sorafenib), inhibidores de la quinasa de la familia BCR-ABL y/o Src (p. ej. Imatinib, dasatinib, nilotinib), VEGFR/PDGFR y/o inhibidores de múltiples quinasas (p. ej. bevacizumab (Avastin®), sorafenib, sunitinib y pazopanib) e inhibidores de proteasoma (p. ej. bortezomib (Velcade®)) etc. La FDA aprobó varios inhibidores de EGFR como Tarceva (Erlotinib) en 2004, Iressa (Gefitinib) en 2003 y Lapatinib en 2010, así como anticuerpos contra EGFR.

[0010] Otra familia de agentes contra el cáncer son inhibidores de la diana de mamífero de la rapamicina (mTOR). mTOR (también llamada FRAP (proteína asociada a FKBP-rapamicina), RAFT (diana de rapamicina y FKBP), RAPT1 o SEP) es una serina/reonina quinasa, que pertenece a la familia de quinasas relacionadas con fosfatidilinositol-3 (PI3K) (PIKKs). mTOR funciona como un controlador central del crecimiento, la proliferación, el metabolismo y la angiogénesis, pero su señalización está desregulada en diversas enfermedades humanas, especialmente en ciertos tipos de cáncer, como el carcinoma de células renales y el cáncer de mama. En el cáncer, mTOR con frecuencia está hiperactivado, lo que promueve el desarrollo y la progresión del cáncer. El desarrollo reciente ha hecho que el tratamiento contra el cáncer pase de los fármacos citotóxicos convencionales a los agentes que se dirigen a proteínas específicas como mTOR, llamados inhibidores de mTOR. Un inhibidor común de mTOR, la rapamicina (Sirolimus), es un producto bacteriano que inhibe mTOR al asociarse con su receptor intracelular. Dos inhibidores de mTOR, Temsirolimus (CCI-779) y Everolimus (Afinitor, RAD-001), que son derivados de la rapamicina, están aprobados para el tratamiento de pacientes con carcinoma avanzado de células renales (CCR) y linfoma de células del manto. Otros ejemplos de inhibidores de mTOR incluyen Ridaforolimus (Deforolimus, AP23573) y NVPBEZ235, que es un inhibidor dual de PI3K y mTOR.

[0011] La primera generación de inhibidores de mTOR como rapamicina, muestran ciertas limitaciones mediante el bloqueo de solamente C1 isoforma, inducir la activación de retroalimentación de AKT y que muestra resistencia a la segunda isoforma mTORC2. Se está desarrollando un panel de agentes de segunda generación que pueden inhibir tanto mTORC1 como mTORC2 dirigiéndose a dominios de quinasas con alto grado de selectividad. Los ejemplos de inhibidores de mTOR de segunda generación incluyen OSI-027 (OSI Pharmaceuticals), XL765 (Exelixis), INK128, MLN0128, AZD2014, DS-3078a y Palomid529.

[0012] En las últimas décadas la inmunoterapia se ha convertido en una parte importante del tratamiento de algunos tipos de cáncer. El objetivo de la inmunoterapia contra el cáncer es permitir que el sistema inmunitario del paciente reconozca y elimine específicamente las células cancerosas. El transductor de señal y el activador de la transcripción 3 (Stat3) a menudo se activan en el cáncer y participan directamente en la implementación y mantenimiento del microambiente inmunosupresor del cáncer y desempeñan un papel central en la evasión inmune del tumor.

[0013] Hay una necesidad no satisfecha de combinaciones que son útiles para el tratamiento del cáncer, proporcionando preferentemente al menos efectos terapéuticos aditivos. Las combinaciones de medicamentos de diferentes categorías son útiles para prevenir o superar la aparición de tumores resistentes a los medicamentos.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

[0014] La presente invención se refiere a composiciones y métodos para tratar el cáncer, y se limita estrictamente a la definición proporcionada en las reivindicaciones adjuntas.

[0015] Los compuestos descritos en el presente documento son moduladores del sustrato de receptor de insulina 1 (IRS1) y/o señalización de sustrato de receptor de insulina 2 (IRS2). En consecuencia, estos compuestos se denominan en el presente documento "moduladores de IRS". En algunas realizaciones, los compuestos son inhibidores de IRS1 y/o IRS2. En realizaciones adicionales, los compuestos de la invención son inhibidores del receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina (IGF-1R). Como tales, estos compuestos son útiles para inhibir, tratar o prevenir trastornos relacionados con la señalización de IGF-1R y/o IRS1 y/o IRS2, por ejemplo cáncer. En algunas realizaciones, los compuestos desencadenan uno o más de los siguientes, en cualquier orden: (i) disociación de IRS1 y/o IRS2 de la membrana celular; (ii) fosforilación de serina de los sustratos directos de IGF-1R IRS1 y/o IRS2; y/o (iii) degradación de IRS1 y/o IRS2, proporcionando así efectos duraderos que potencian la actividad inhibidora de

estos compuestos. En otras realizaciones, los compuestos también son inhibidores del receptor de insulina (IR) relacionado con IGF1R, o proteínas afectadas o mediadas por estas PTK o que son parte de la ruta de transducción de señales mediada por PTK.

5 [0016] Los IRS están regulados negativamente por elementos aguas abajo EGFR, así como por mTOR/S6K. Por lo tanto, el tratamiento de pacientes con medicamentos que inhiben estos objetivos puede resultar, como efecto secundario, en la regulación positiva del IRS y en la activación de una vía de supervivencia central hacia el AKT. De acuerdo con los principios de la presente invención, este mecanismo de retroalimentación que conduce a la resistencia a los medicamentos puede verse abrumado al combinar el destructor del IRS con el tratamiento, como se demuestra en este documento.

15 [0017] Los compuestos descritos en este documento son también moduladores de transductor de señal y activador de la transcripción 3 (Stat3). Por consiguiente, estos compuestos también se denominan en el presente documento "moduladores de Stat3". En algunas realizaciones, los compuestos conducen a la inhibición de la fosforilación de Stat3 en células cancerosas. Se detectan niveles aumentados de fosforilación de Stat3 en varios tipos de cáncer y cánceres resistentes a los medicamentos, lo que aumenta la supervivencia del cáncer. Además, el tratamiento de cánceres con fármacos inhibidores de PK sorprendentemente conduce a la inducción de la fosforilación de Stat3, como se demuestra aquí. Sin desear limitarse a ninguna teoría o mecanismo de acción particular, se contempla que inhibir la actividad de Stat3 con los compuestos de la presente invención puede sinergizar con dichos fármacos inhibidores de PK, que como efecto secundario regulan positivamente Stat3, pueden prevenir la resistencia adquirida a tales medicamentos, y pueden ser eficaces para cánceres resistentes a los medicamentos.

25 [0018] Debido a su doble efecto sobre IRS y Stat3, los compuestos se describen adicionalmente en el presente documento como "moduladores duales IRS/Stat3".

30 [0019] Por lo tanto, en una realización, la presente invención se refiere a un método de tratamiento de un tumor que se ha desarrollado resistencia a un inhibidor de receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y/o anticuerpo EGFR, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo de EGFR en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

35 [0020] En otra realización, la presente invención se refiere a un método de prevención de la resistencia adquirida de un tumor a un inhibidor de receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y/o anticuerpo de EGFR, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

40 [0021] En otra realización, la presente invención se refiere a un método para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después del cese del tratamiento con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo de EGFR, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

45 [0022] En otra realización, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV), en combinación con un inhibidor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), y/o el anticuerpo EGFR.

50 [0023] En otra realización, la presente invención se refiere a la combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III), en combinación con un inhibidor de Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) y/o anticuerpo de EGFR, en donde se selecciona el inhibidor de EGFR del grupo que consiste en erlotinib, gefitinib, lapatinib, vandetanib, neratinib, icotinib, afatinib, dacomitinib, poziotinib, AZD9291, CO-1686, HM61713 y AP26113, y en donde el anticuerpo EGFR se selecciona del grupo que consiste en trastuzumab, necitumab y panitumumab, preferiblemente en donde el inhibidor de EGFR es erlotinib o afatinib, y/o en donde el anticuerpo EGFR es cetuximab.

55 [0024] En otras realizaciones, la presente invención se refiere a combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (IV), en combinación con un inhibidor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y/o anticuerpo EGFR.

60 [0025] En otras realizaciones, la presente invención se refiere además a las combinaciones farmacéuticas como se describe anteriormente para uso en el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo de EGFR, o para prevenir resistencia adquirida a un inhibidor de EGFR y/o Anticuerpo EGFR, o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR.

65 [0026] En otras realizaciones, la presente invención se refiere además al uso de las combinaciones descritas anteriormente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo de EGFR, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo de EGFR, o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo de EGFR.

[0027] En una realización, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (III). En otra realización, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (IV). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0028] En algunas realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene tumores con resistencia adquirida al inhibidor EGFR y/o el tratamiento con anticuerpos EGFR. En otras realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo tratamiento con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR o es un candidato para recibir dicho tratamiento. En otras realizaciones, el tratamiento da como resultado atenuación o regresión en el crecimiento de los tumores resistentes.

[0029] En algunas realizaciones, el inhibidor de EGFR se selecciona del grupo que consiste de erlotinib, gefitinib, lapatinib, vandetanib, neratinib, icotinib, afatinib, dacomitinib, poziotinib, AZD9291, CO-1686, HM61713 y AP26113. En una realización actualmente preferida, el inhibidor de EGFR es erlotinib. En otra realización actualmente preferida, el inhibidor de EGFR es afatinib. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0030] En algunas realizaciones, el anticuerpo de EGFR se selecciona del grupo que consiste de trastuzumab, necitumumab, cetuximab y panitumumab. En una realización actualmente preferida, el anticuerpo EGFR es cetuximab.

[0031] En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula (III), representado por la estructura de fórmula D en combinación con erlotinib o afatinib.

[0032] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula (III), representado por la estructura de fórmula D, en combinación con cetuximab.

[0033] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula (III), representado por la estructura de fórmula D, en combinación con afatinib y cetuximab.

[0034] En algunas realizaciones, el tratamiento de combinación incluye un compuesto de fórmula (III) o (IV), y, o bien un anticuerpo EGFR, o el inhibidor de EGFR. En otras realizaciones, el tratamiento combinado incluye un compuesto de fórmula (III) o (IV), y tanto un anticuerpo EGFR como un inhibidor de EGFR. En algunas realizaciones preferidas actualmente, el inhibidor de EGFR es erlotinib o afatinib, y el anticuerpo de EGFR es cetuximab.

[0035] En una realización específica, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de la fórmula D en combinación con erlotinib. En una realización específica, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con afatinib. En otra realización específica, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con cetuximab. En otra realización específica, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con afatinib y cetuximab.

[0036] También se describe en el presente documento, que una combinación de un modulador dual del sustrato del receptor de insulina (IRS) y el transductor de señal y activador de la transcripción 3 (Stat3), como se describe en el presente documento, y un inhibidor de la diana de mamífero de la rapamicina (mTOR), proporciona un efecto terapéutico que es al menos aditivo, y preferiblemente es sinérgico en comparación con el efecto del tratamiento de cada agente solo. Además, la combinación se puede usar para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor de mTOR, y/o para prevenir la resistencia adquirida de un tumor al inhibidor de mTOR y/o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con un inhibidor de la diana de mamífero de rapamicina (mTOR).

[0037] También se describe una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV), y al menos un inhibidor de la diana de mamífero de la rapamicina (mTOR), donde el compuesto y el inhibidor de al menos un mTOR juntos proporcionan un efecto terapéutico sinérgico contra el cáncer.

[0038] También se describe un método para tratar el cáncer, que comprende la etapa de administrar al sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV), y al al menos un inhibidor de la diana de rapamicina en mamíferos (mTOR), en donde el compuesto y al menos un inhibidor de mTOR juntos proporcionan un efecto terapéutico sinérgico.

[0039] También se describe un método para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor de diana de mamífero de rapamicina (mTOR), comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de mTOR en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

[0040] También se describe un método para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a un inhibidor de la diana

de mamífero de la rapamicina (mTOR), comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de mTOR en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

5 [0041] También se describe un método para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después del cese del tratamiento con un inhibidor de la diana de mamífero de la rapamicina (mTOR), comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de mTOR en combinación con un compuesto representado por la estructura de la fórmula (III) o (IV).

10 [0042] Se describe adicionalmente la combinación farmacéutica como se describe anteriormente para su uso en el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor mTOR, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de mTOR, o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después del cese de tratamiento con un inhibidor de mTOR.

15 [0043] También se describe el uso de la combinación descrita anteriormente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de mTOR, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de mTOR, o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor tras la interrupción del tratamiento con un inhibidor de mTOR.

20 [0044] En una realización, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (III). En otra realización, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (IV). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

25 [0045] En alguna realización, el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene tumores con resistencia adquirida al tratamiento inhibidor de mTOR. En otras realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo tratamiento con un inhibidor de mTOR o es un candidato para recibir dicho tratamiento. En otras realizaciones, el tratamiento da como resultado atenuación o regresión en el crecimiento de los tumores resistentes.

30 [0046] Cualquier inhibidor de mTOR conocido por una persona de experiencia en la técnica puede ser utilizado en las combinaciones de la presente divulgación. En algunas realizaciones, el inhibidor de mTOR se selecciona del grupo que consiste en rapamicina (Sirolimus), Ridaforolimus (Deforolimus, AP23573), NVP-BEZ235, Everolimus (Afinitor, RAD-001), Temsirolimus (CCI-779), OSI- 027, XL765, INK128, MLN0128, AZD2014, DS-3078a y Palomid529. En una realización actualmente preferida, el inhibidor de mTOR es Everolimus.

35 [0047] En una realización específica, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D y el inhibidor mTOR es Everolimus (Afinitor).

[0048] En algunas realizaciones, el sujeto o el paciente de cáncer es un humano.

40 [0049] En otros aspectos, se ha encontrado inesperadamente que dos moduladores de IRS y Stat3 se pueden usar para sensibilizar a un tumor para inmunoterapia. Se sabe que Stat3 a menudo se activa en el cáncer y está directamente involucrado en la implementación y el mantenimiento del microambiente inmunosupresor del cáncer y desempeña un papel central en la evasión inmune del tumor. Sin desear limitarse a ninguna teoría o mecanismo de acción particular, se contempla que la inhibición de la fosforilación de Stat3 con los compuestos de la presente invención desenmascara el tumor del sistema inmune local y los sensibiliza a la inmunoterapia, por ejemplo, anticuerpos contra PDL, PD1, CTLA4 o cualquier otro agente de inmunoterapia.

50 [0050] También se describe un método de sensibilización de un tumor a la inmunoterapia, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV) en combinación con un agente de inmunoterapia.

[0051] Se describe además una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV), en combinación con un agente de inmunoterapia.

55 [0052] También se describe una combinación que comprende un compuesto de fórmula (III) o (IV) con un agente de inmunoterapia, para el uso en la sensibilización de un tumor a la inmunoterapia.

[0053] También se describe el uso de una combinación que comprende un compuesto de fórmula (III) o (IV) con un agente de inmunoterapia, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor mediante la sensibilización del tumor a la inmunoterapia.

60 [0054] En un aspecto, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (III). En otra realización, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (IV). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

65 [0055] En algunos aspectos, el agente de inmunoterapia se utiliza en combinación con el compuesto descrito anteriormente es un anticuerpo contra una diana seleccionada del grupo que consiste de PDL, PD1, CTLA4, CD20,

CD30, CD33, CD52, VEGF, CD30, EGFR y ErbB2. En algunas realizaciones, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en Alemtuzumab, Bevacizumab, Brentuximab vedotin, Cetuximab, Gemtuzumab ozogamicin, Ibritumomab tiuxetan, Ipilimumab, Ofatumumab, Panitumumab, Rituximab, Tositumomab y Trastuzumab. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

5 [0056] En algunas realizaciones, el tumor está presente en un paciente de cáncer que está recibiendo inmunoterapia o un candidato para recibir la inmunoterapia.

10 [0057] En otros aspectos, ahora se ha encontrado inesperadamente que una combinación de un doble modulador de sustrato de receptor de insulina (IRS) y transductor de señales y activador de la transcripción 3 (Stat3), como se describe en el presente documento, y un inhibidor de quinasa de proteína activada por mitógeno (MEK) y/o un inhibidor de B-Raf mutada, proporciona un efecto terapéutico que es al menos aditivo, y preferiblemente es sinérgico en comparación con el efecto del tratamiento de cada agente solo. Además, la combinación se puede usar para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, y/o para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada y/o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la suspensión del tratamiento con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada.

15 [0058] Por lo tanto, en algunos aspectos, la descripción se refiere a un método de tratamiento de un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor de quinasa de proteína activada por mitógeno (MEK) y/o un inhibidor de B-Raf mutada, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

20 [0059] En otras realizaciones, la presente descripción se refiere a un método de prevención de la resistencia adquirida de un tumor a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor MEK y/o inhibidor de B-Raf mutada, en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

25 [0060] También se describe un método para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de cese del tratamiento con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor MEK y/o inhibidor de B-Raf mutada, en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

30 [0061] También se describe una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III), en combinación con un inhibidor de quinasa de proteína activada por mitógeno (MEK), y opcionalmente un inhibidor de B-Raf mutada. En algunas realizaciones, la combinación comprende un compuesto de fórmula (III), un inhibidor de MEK y un inhibidor de B-Raf mutada preferiblemente, en donde el inhibidor de MEK es Trametinib, y el inhibidor de B-Raf mutada es Vemurafenib.

35 [0062] También se describe un compuesto representado por la estructura de fórmula (IV), en combinación con un inhibidor de quinasa de proteína activada por mitógeno (MEK), y/o un inhibidor de B-Raf mutada.

40 [0063] En algunos aspectos, el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene tumores con resistencia adquirida al inhibidor MEK y/o el tratamiento inhibidor de B-Raf mutada. En otras realizaciones, el tratamiento da como resultado atenuación o regresión en el crecimiento de los tumores resistentes. En otras realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo tratamiento con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada o es un candidato para recibir dicho tratamiento.

45 [0064] Cualquier inhibidor de MEK conocido por una persona de experiencia en la técnica pueden usarse en las combinaciones. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se selecciona del grupo que consiste en Trametinib (GSK1120212), Selumetinib, Binimetinib (MEK162), PD-325901, Cobimetinib, CI-1040 y PD035901, preferiblemente, en donde el inhibidor de MEK es Trametin.

50 [0065] Cualquier inhibidor de B-Raf mutada conocida por una persona de experiencia en la técnica puede usarse en las combinaciones de la presente divulgación. En algunas realizaciones, el inhibidor de B-Raf mutada se selecciona del grupo que consiste en Vemurafenib (PLX-4032), PLX4720, Sorafenib (BAY43-9006) y Dabrafenib, preferiblemente, en donde el inhibidor de B-Raf mutada es Vemurafenib.

55 [0066] En un aspecto, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (III). En otra realización, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (IV). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

60 [0067] En algunos aspectos, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D y el inhibidor de MEK es Trametinib.

65 [0068] En otros aspectos, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D y el inhibidor de B-Raf mutada

es Vemurafenib.

[0069] También se describe la combinación de un compuesto de fórmula (III) o (IV), y, o bien un inhibidor de MEK o un inhibidor de B-Raf mutada. En otras realizaciones, el tratamiento combinado incluye un compuesto de fórmula (III) o (IV), y tanto un inhibidor de MEK como un inhibidor de B-Raf mutada.

[0070] En algunas realizaciones, el sujeto o el paciente de cáncer es un humano.

[0071] En algunas realizaciones, la presente descripción se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de la fórmula D en combinación con Trametinib.

[0072] También se describe una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con Trametinib y Vemurafenib.

[0073] También se describe las combinaciones descritas anteriormente, para uso en el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada.

[0074] También se describe el uso de las combinaciones descritas anteriormente, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, o para prevenir adquirido resistencia a una Inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada.

[0075] En otros aspectos, ahora se ha encontrado inesperadamente que una combinación de un doble modulador de sustrato de receptor de insulina (IRS) y transductor de señales y activador de la transcripción 3 (Stat3), como se describe en el presente documento, y un agente quimioterapéutico tal como gemcitabina, 5-FU, irinotecan, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos (por ejemplo, el tratamiento combinado FOLFIRI o FOLFOX), proporciona un efecto terapéutico que es al menos aditivo, y preferiblemente es sinérgico en comparación con el efecto del tratamiento de cada agente solo. Además, la combinación se puede usar para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a cualquiera de estos agentes quimioterapéuticos o su combinación y/o para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a cualquiera de estos agentes quimioterapéuticos o su combinación, y/o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después del cese del tratamiento con cualquiera de estos agentes terapéuticos o su combinación.

[0076] FOLFIRI es un tratamiento de combinación para el cáncer que contiene leucovorina (ácido folínico), 5-FU e irinotecán. FOLFOX es un tratamiento combinado para el cáncer que contiene leucovorina cálcica (ácido folínico), 5-FU y oxaliplatino.

[0077] Así, según algunas formas de realización, la presente descripción se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV) y al menos un agente quimioterapéutico seleccionado de gemcitabina, 5-FU, irinotecán, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, en donde el compuesto y el (los) agente(s) quimioterapéutico(s) juntos proporcionan un efecto terapéutico sinérgico contra el cáncer.

[0078] En algunas realizaciones, la presente descripción se refiere a un método de tratamiento de cáncer, que comprende la etapa de administrar al sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV) y al menos un agente quimioterapéutico seleccionado de Gemcitabina, 5-FU, Irinotecán, Oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, en donde el compuesto y el (los) agente(s) quimioterapéutico(s) juntos proporcionan un efecto terapéutico sinérgico contra el cáncer.

[0079] Además se describe un método para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a al menos un agente quimioterapéutico, por ejemplo, gemcitabina, 5-FU, irinotecán, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con al menos uno de dichos agente(s) quimioterapéutico(s) en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

[0080] También se describe un método para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a al menos un agente quimioterapéutico, por ejemplo, gemcitabina, 5-FU, irinotecán, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con al menos uno de dichos agentes quimioterapéuticos en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

[0081] También se describe un método para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después del cese de tratamiento con al menos un agente quimioterapéutico, por ejemplo, gemcitabina, 5-FU, irinotecán, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con al menos uno de dichos agentes quimioterapéuticos en combinación con un compuesto representado por la estructura de

fórmula (III) o (IV).

[0082] En algunas realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene tumores con resistencia adquirida a cualquier uno o más de dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s). En otras realizaciones, el tratamiento da como resultado atenuación o regresión en el crecimiento de los tumores resistentes. En otras realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo tratamiento con dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s), o es un candidato para recibir dicho tratamiento.

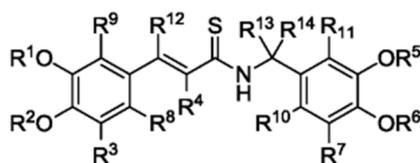
[0083] También se describe una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV) y al menos un agente quimioterapéutico seleccionado de gemcitabina, 5-FU, irinotecán, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, para su uso en tratar un tumor que es resistente a uno o más de dichos agentes quimioterapéuticos, o para prevenir la resistencia adquirida a dicho(s) agente(s) quimioterapéutico, o para retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con uno o más de dicho(s) agente(s) quimioterapéuticos(s).

[0084] También se describe el uso de una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de la fórmula (III) o (IV) y al menos un agente quimioterapéutico seleccionado de gemcitabina, 5-FU, irinotecán, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor que es resistente a dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s), o para prevenir la resistencia adquirida a dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s), o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después del cese del tratamiento con tales agentes quimioterapéuticos.

[0085] Como se contempla en el presente documento, la presente descripción proporciona varios ejemplos en los que los tumores con gen K-RAS que no respondieron a un fármaco anti-cáncer, demostraron regresión del tumor impresionante cuando el agente anti-cáncer se combina con el compuesto D. Por ejemplo, La combinación de agentes anticancerígenos con el compuesto D convirtió los tumores "no respondientes" en "respondedores" al agente anticancerígeno. En el ejemplo 1 (Figura 1) el análisis genómico del grupo tratado con Erlotinib en el punto final, es decir, los clones resistentes a Erlotinib, revelaron varias alteraciones en comparación con el control. Entre estas variaciones genómicas novedosas estaba KRAS, conocida por generar resistencia a los inhibidores de EGFR. Las alternancias genómicas relacionadas con KRAS incluyeron la amplificación de KRAS y la pérdida de NF-1, lo que resulta en la activación de K-Ras. A diferencia de los tumores tratados con Erlotinib, los tumores que fueron tratados tanto con Erlotinib como con el compuesto D no tuvieron las alteraciones de KRAS. En estos tumores (tratados tanto con Erlotinib como con el compuesto D), no se adquirió resistencia a Erlotinib y los tumores no progresaron durante el tratamiento. Además, el tratamiento de los tumores resistentes a Erlotinib con el compuesto D + Erlotinib sensibilizó nuevamente estos tumores a Erlotinib e indujo la regresión tumoral. Esto sugiere que la inclusión del compuesto D antagonizó la resistencia impuesta por la amplificación y/o activación de KRAS. En otro ejemplo, los tumores pancreáticos resistentes a la gemcitabina (Figura 13A, B), con KRAS mutado, se sensibilizaron nuevamente al tratamiento con Gemcitabina combinándolo con el compuesto D. Además, los datos de apoyo de la literatura muestran que muchas células cancerosas tratadas con drogas "adictas a los oncogenes" participan en un ciclo de retroalimentación positiva que conduce a la activación de STAT3, lo que promueve la supervivencia celular y limita la respuesta general al medicamento. Esto se observó en las células cancerosas impulsadas por diversas quinasas activadas, incluidas EGFR, HER2, ALK y MET, así como KRAS mutantes.

[0086] Por consiguiente, en algunos aspectos, la presente descripción se refiere a un método para tratar un tumor, que comprende la etapa de poner en contacto el tumor con combinaciones de un compuesto de fórmula (III) o (IV) con un fármaco contra el cáncer, al que los tumores desarrollaron resistencia debido a mutaciones y/o amplificación en KRAS. Cualquiera de los agentes anticancerígenos descritos en el presente documento (por ejemplo, inhibidor de EGFR/anticuerpo de EGFR/inhibidor de mTOR/agente de inmunoterapia/inhibidor de MEK/inhibidor de B-Raf mutada/agente quimioterapéutico/combinaciones de los anteriores) puede usarse en tales métodos, mediante tratar tumores que han desarrollado resistencia a dichos agentes debido a mutaciones y/o amplificación de KRAS.

[0087] El compuesto de fórmula (III) está representado por la estructura



(III)

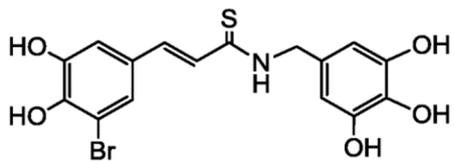
en donde

R¹, R², R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente de H, C₁-C₄ alquilo, (CH₂CH₂O)_nH en donde n es un número entero de 1 a 20, acilo y un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis;

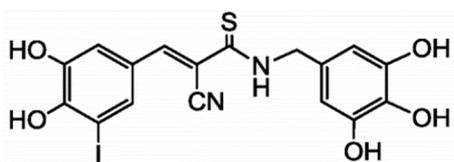
R³, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³ y R¹⁴ se seleccionan independientemente de H, halógeno, C₁-C₄ alquilo, C₁-C₄ haloalquilo, CH₂SR^a en donde R^a se selecciona de H, C₁-C₄ alquilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, C₁-C₄ alquilarilo, C₁-C₄ alquilheterociclilo y C₁-C₄ alquilheteroarilo, y OR¹⁶ en donde R¹⁶ es H, C₁-C₄ alquilo, (CH₂CH₂O)_nH, acilo o un grupo funcional que da lugar a hidroxilo después de la hidrólisis; y R⁴ es H o CN;

5 incluyendo sales, hidratos, solvatos, polimorfos, isómeros ópticos, isómeros geométricos, enantiómeros, diastereómeros y mezclas de los mismos.

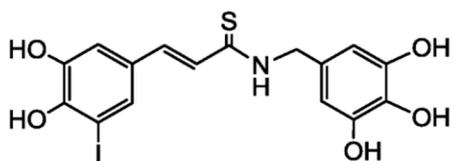
10 **[0088]** En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (III) se selecciona del grupo que consiste de compuestos A, B, C, D, E, F, G, H, I y J:



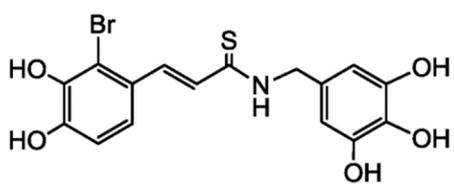
A



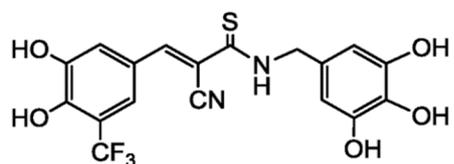
B



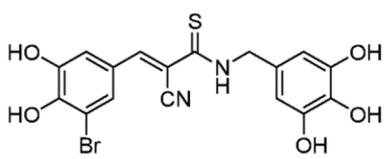
C



D

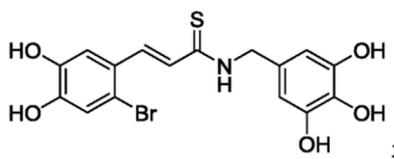


E



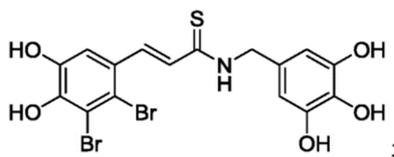
F

5



G

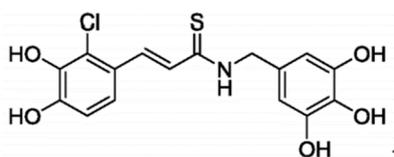
10



H

15

20

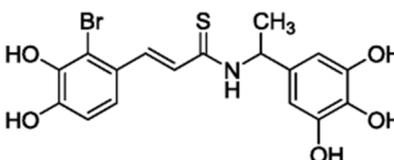


I

25

y

30



J

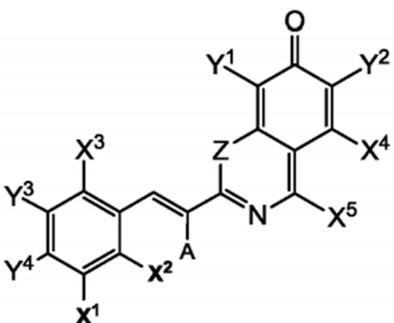
35

40

[0089] Según la invención, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D.

[0090] El compuesto de fórmula (IV) está representado por la estructura

45



(IV)

50

55

en donde

60

A es H o CN;

Z es S, SO o SO₂;

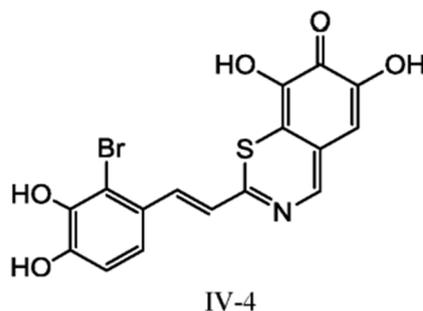
X¹, X², X³, X⁴, X⁵, Y¹ e Y² se seleccionan cada uno independientemente de H, halógeno, alquilo, haloalquilo y OR¹; y

Y³ e Y⁴ son cada uno OR¹, en donde cada R¹ es independientemente H, C₁-C₄ alquilo, -(CH₂CH₂O)_nH en donde n es un número entero de 1 a 20, acilo o un grupo funcional que da lugar al hidroxilo tras la hidrólisis,

65

que incluye sales, hidratos, solvatos, polimorfos, isómeros ópticos, isómeros geométricos, enantiómeros, diastereómeros y mezclas de los mismos.

[0091] En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (IV) está representado por la estructura de fórmula (IV-4)



[0092] Es además evidente para un experto en la técnica que cualesquiera otros compuestos de fórmula (I) o (IV) descritos en este documento pueden usarse para cualquiera de los tratamientos de combinación descritos.

[0093] Las combinaciones de la presente, como se define en las reivindicaciones adjuntas, son adecuadas para el tratamiento de diversos tipos de cánceres. En particular, las combinaciones de la presente invención son activas contra el cáncer de cabeza y cuello (H&N), sarcoma, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cánceres hematopoyéticos, linfoma, leucemia, incluyendo leucemia linfoblástica, carcinoma de pulmón, melanoma, glioblastoma, hepatocarcinoma, cáncer de próstata y cáncer de colon. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0094] El término "combinación" o "tratamiento combinado", como se usa aquí indica cualquier forma de tratamiento concurrente o paralelo con al menos dos agentes terapéuticos distintos. Este término pretende abarcar tanto la administración concomitante de las dos modalidades de tratamiento, es decir, usar sustancialmente el mismo programa de tratamiento, como la administración superpuesta en programas secuenciales o alternos de cada tratamiento. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0095] La terapia de combinación es particularmente ventajosa, ya que la dosis de cada agente de una terapia de combinación se puede reducir en comparación con la monoterapia con cada agente, sin dejar de lograr un efecto general anti-cáncer. En consecuencia, la reducción de la dosis de cada agente puede provocar una disminución de los efectos secundarios. La terapia de combinación puede reducir el desarrollo de resistencia a un tratamiento específico contra el cáncer y/o conducir a la regresión del tumor después de que haya adquirido resistencia, como se demuestra en este documento.

[0096] El compuesto de fórmula (III) o (IV) y el inhibidor EGFR/anticuerpo EGFR/inhibidor mTOR/agente de la inmunoterapia /inhibidor de MEK/inhibidor de B-Raf mutada/agente quimioterapéutico/combinaciones de los anteriores se pueden administrar simultáneamente (en lo mismo o en formas de dosificación separadas), o pueden administrarse secuencialmente, en cualquier orden. La administración también puede llevarse a cabo de acuerdo con programas de dosificación alternos, por ejemplo, compuesto de fórmula (III) o (IV) seguido por el (los) agente(s) adicional(es), luego una dosis adicional del compuesto de fórmula (III) o (IV), seguido por el mismo agente u otro(s) y más. Todos los programas de administración, incluidos los simultáneos, secuenciales y alternos, representan aspectos separados de la presente divulgación.

[0097] Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden proporcionar en cualquier forma conocida en la técnica, por ejemplo en una forma adecuada para la administración oral (por ejemplo, una solución, una suspensión, un jarabe, una emulsión, una dispersión, una tableta, una píldora, una cápsula, un gránulo, gránulos y un polvo), para administración parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intraarterial, transdérmica, subcutánea o intraperitoneal), para administración tópica (por ejemplo, una pomada, un gel, una crema), para administración por inhalación o administración por supositorio. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0098]

Figura 1. previene Compuesto D resistencia adquirida a Erlotinib en ratones implantados con un tumor de un Head & paciente de cáncer de cuello (H & N). Los ratones fueron tratados con (a) vehículo (\square); (b) erlotinib (h); (c) Compuesto D (\otimes); o (d) Erlotinib + Compuesto D(s). Los tratamientos se iniciaron cuando el tamaño promedio del tumor fue $\sim 80 \text{ mm}^3$. El tratamiento con Erlotinib indujo una regresión tumoral significativa, pero durante el tratamiento todos los ratones tratados con Erlotinib desarrollaron resistencia a Erlotinib y sus tumores regresaron agresivamente. El tratamiento combinado de Erlotinib y el Compuesto D indujo la

regresión del tumor y ninguno de ellos volvió a crecer mientras estaba en tratamiento. Valores de P (vs. Erlotinib) = 0.0001.

Figura 2. El compuesto D previene la resistencia adquirida a Erlotinib y conduce a la regresión de los tumores resistentes a Erlotinib en ratones implantados con un tumor de un paciente con cáncer de cabeza y cuello (H&N). Los ratones fueron tratados con (a) vehículo (◇); (b) erlotinib (□); (c) Compuesto D (Δ); o (d) Erlotinib + Compuesto D (O). El tratamiento con Erlotinib (grupo b) inicialmente condujo a una regresión tumoral. Durante el tratamiento, los tumores desarrollaron resistencia a Erlotinib y volvieron a crecer. El tratamiento combinado de Erlotinib y el Compuesto D indujo la regresión tumoral y ninguno de los tumores volvió a crecer (grupo d), de acuerdo con los resultados mostrados en la figura 1. Después de que se adquirió resistencia a Erlotinib, los ratones del grupo b cuyos tumores tenían ~130 mm³ en el día 10 se dividió en dos grupos, el primero permaneció solo con Erlotinib (□) y el segundo recibió un tratamiento combinado de Erlotinib + Compuesto D a partir del día 10 de tratamiento (•). Mientras que los tumores crecieron significativamente bajo tratamiento solo con Erlotinib (□), el tratamiento combinado del Compuesto D y Erlotinib indujo la regresión tumoral (•).

Figura 3. El compuesto D previene la resistencia adquirida a Erlotinib en tumores grandes (700 mm³). Los ratones fueron tratados con vehículo (◇), Erlotinib (□), Compuesto D (O) o Erlotinib + Compuesto D (O). Los tratamientos se iniciaron cuando el tamaño promedio del tumor fue de ~700 mm³.

Figura 4. El tratamiento combinado con Afinitor y Compuesto D induce la regresión tumoral del AdenoSarcoma Uteral agresivo en ratones. Los ratones implantados con xenoinjertos derivados de pacientes de AdenoSarcoma Uteral violento se trataron cuando el tamaño promedio del tumor era ~130 mm³ con vehículo (◇), Afinitor (□), Compuesto D (O) o Afinitor + Compuesto D (O). El volumen tumoral promedio del grupo tratado con Afinitor (□) indicó inhibición del crecimiento tumoral. Mientras que el Compuesto D (O) solo no tuvo un efecto significativo sobre el crecimiento tumoral en comparación con el control, el tratamiento combinado con Afinitor + Compuesto D (O) condujo a la regresión del tumor. En el análisis alternativo de los resultados (demostrado en la figura 5), mientras que ninguno de los ratones respondió al Compuesto D (O) solo y en el grupo tratado con Afinitor (□), la mitad del grupo respondió y la otra mitad no, el tratamiento de combinación con Afinitor + Compuesto D (O) condujo a una respuesta positiva de todos los ratones en el grupo.

Figura 5. El compuesto D previene la resistencia adquirida a Afinitor (A) y conduce a la regresión de los tumores resistentes a Afinitor (B). Los ratones implantados con xenoinjertos de Adenosarcoma uterino agresivo derivados del paciente, se trataron primero cuando los tumores eran ~130 mm³ como se describe en la figura 4. Los ratones fueron tratados con vehículo (diamantes); Afinitor (cuadrados); Compuesto D (triángulos); o Afinitor + Compuesto D (círculos). **Fig. 5A.** El grupo tratado con Afinitor se dividió en respondedores (cuadrados abiertos, grupo A, n = 8) versus no respondedores (cuadrados grises, grupo B, n = 7). El tratamiento con Afinitor del grupo A inicialmente indujo la regresión tumoral, pero durante el tratamiento todos los tumores desarrollaron resistencia a Afinitor y progresaron agresivamente. El tratamiento combinado de Afinitor y el Compuesto D desde el día 0 (inicio del tratamiento) indujo la regresión tumoral y su volumen tumoral promedio permaneció bajo hasta el final del (de los) experimento(s). **Fig. 5B.** Después de adquirir resistencia a Afinitor, los ratones del grupo A se dividieron en dos grupos, el primero permaneció solo con Afinitor (□) y el segundo recibió tratamiento combinado de Afinitor + Compuesto D a partir del día 6 de tratamiento (•). Mientras que los tumores progresaron significativamente bajo el tratamiento con Afinitor solo (h), el tratamiento combinado del Compuesto D y Afinitor indujo la regresión tumoral (•). El gráfico en la Fig. 5B representa las tasas de crecimiento en %, mientras que el 100% para cada tumor se definió como su volumen en el día 6. **Fig. 5C** Tratamiento combinado con Afinitor + Compuesto D de cáncer de Adenosarcoma uterino altamente agresivo sin tratamiento médico disponible retrasó resistencia adquirida a Afinitor y logró una respuesta completa en el 40% del grupo.

Figura 6. Los moduladores duales de IRS/Stat3 inhiben potentemente la fosforilación de Stat3 en células intactas de una manera dependiente de la dosis, y su efecto inhibitor sobre Stat3 dura mucho después de que los moduladores se hayan lavado las células. **A.** Las células A375 de melanoma humano se trataron con las concentraciones indicadas de los compuestos A o D durante 1,3 y 4,5 h. Las células se lisaron y se inmunotransfirieron con anticuerpos contra fosfo-Y705 Stat3 (pSTAT3) y Stat3. Se demuestra una inhibición de la respuesta a la dosis de pStat3 con valores de CI50 submicromolar, y el efecto se potencia con el tiempo. **B.** Las células se trataron con 2 μM de Compuesto A y se lisaron siguiendo los tiempos indicados. **C.** Las células A375 se trataron con el compuesto D durante 4 horas, luego se lavaron con medio varias veces y se lisaron después de 4, 24 y 48 horas de incubación sin inhibidores. **D.** Inhibición dependiente de la dosis de pStat3 que muestra valores de CI50 de <1 μM para los compuestos A, C, D; 1 μM para el compuesto B y 2 μM para el compuesto F. **E.** Inhibición completa de la fosforilación de Stat3 Y705 en células de melanoma A375 24 horas después del tratamiento con compuestos 3 μM IV-1, IV-2, IV-3 y IV-4.

Figura 7. La resistencia adquirida a los inhibidores de BRAF (BRAFi) en el melanoma se acompaña de niveles mejorados de fosforilación de Stat3, y el tratamiento con BRAFi de células de melanoma humano induce

sorprendentemente un aumento dramático en pStat3. Fig. **7A**. Niveles muy elevados de pStat3 en el clon de melanoma resistente a BRAFi (R) en comparación con las células de melanoma parental (P). Melanoma metastásico humano Las células 451-Lu (P) y el clon resistente a PLX4032, ambos poseen BRAF mutado, se cultivaron en un medio sin suero y se inmunotransfirieron con anti-pStat3 Ab seguido de anti-Stat3 Ab. Fig. **7B**. Niveles altamente elevados de pStat3 en células de melanoma con BRAF mutado, derivado de pacientes que adquirieron resistencia al BRAFi PLX4032 (R) en comparación con células de melanoma con BRAF mutado de pacientes ingenuos que no fueron tratados con PLX4032 (N). Las células de pacientes se cultivaron en medio completo y se inmunotransfirieron como se describió anteriormente. Figs. **7C-E**. El tratamiento con PLX4032 de células de melanoma humano mutadas con BRAF sorprendentemente induce un aumento dramático en pStat3. Los compuestos A/D bloquean el pStat3 basal e inducen por PLX4032. El tratamiento del melanoma humano sensible a PLX4032 A375 (C), 451-Lu (D) o células Mel1617 (E) con PLX4032 1 μ M durante 18-24 h induce un aumento dramático en pStat3. Los compuestos A (Fig. 7C, D) o D (Fig. 7E) bloquean tanto el pStat3 basal como el inducido por PLX4032. OSI-906, un inhibidor competitivo de ATP de IGF1R, no tiene efecto sobre pStat3.

Figura 8. Los moduladores duales de IRS/Stat3 inhiben eficazmente pStat3 en células de melanoma resistentes a BRAFi, que adquirieron resistencia en cultivo o en pacientes. Su capacidad para inhibir pStat3 se ejemplificó en varios tipos de cáncer. Fig. **8AB**. El compuesto A, a diferencia del inhibidor de IGF1R OSI-906, inhibe potentemente pStat3 en clones de melanoma resistentes a BRAFi, 451-BR (Fig. 8A) y Me11617-BR (Fig. 8B). Fig. **8C**. El compuesto A, y el compuesto D más potente, inhiben pStat3 en células de melanoma de pacientes (i y ii) que adquirieron resistencia a PLX4032 después del tratamiento. Fig. **8D**. Las células de varios tipos de cáncer se trataron con el compuesto D durante 4 horas en medio sin suero y 20 horas en medio con o sin suero al 10%. Los asteriscos indican una concentración de 10 μ M para las células RPMI8226 y HepG2.

Figura 9. El tratamiento de células de melanoma A375 con el Compuesto A induce quimiotaxis de PBMC. Las células A375 se trataron con las concentraciones indicadas del Compuesto A y se lavaron dos veces con el medio 4 horas después del tratamiento donde se indicó (Lavado). 30 horas después del tratamiento, el medio celular se transfirió a la placa inferior del dispositivo de quimiotaxis. Se añadieron 10.000 PBMC/pocillo a la placa superior. Además, se agregaron PBMC en la placa inferior como control positivo. Fig. **9A**. La quimiotaxis de las PBMC hacia el Compuesto A se examinó 24 horas después mediante el análisis Cell Titer Glo de la placa inferior. Fig. **9B**. Curva de calibración PBMC de 10-10.000 células/pocillo.

Figura 10. El tratamiento combinado de Cetuximab + Afatinib con el Compuesto D muestra un retraso dramático en la recurrencia del tumor en comparación con Cetuximab + Afatinib solo en ratones implantados con un tumor de un paciente con HNSCC. Los ratones fueron tratados durante 9 días con (a) vehículo (\diamond); (b) Compuesto D (O); (c) Cetuximab (\square); (d) Cetuximab + Afatinib (\blacksquare); (e) Cetuximab + Compuesto D (O); o (e) Cetuximab + Afatinib + Compuesto D (\bullet). Los tratamientos se iniciaron cuando el tamaño promedio del tumor fue ~ 110 mm³. El tratamiento combinado del Compuesto D con Cetuximab o Cetuximab + Afatinib solo durante 9 días, retrasó significativamente la recurrencia de tumores regresivos y una respuesta prolongada a Cetuximab o Afatinib.

Figura 11. El compuesto D se sinergia con la combinación del inhibidor de BRAF mutado (BRAFi) y el inhibidor de MEK (MEKi), para inducir una regresión tumoral dramática en ratones implantados con células tumorales de un paciente con melanoma que ha adquirido resistencia al tratamiento farmacológico inhibidor de BRAF mutado. Los ratones fueron tratados con (a) vehículo (\diamond); (b) Trametinib (MEKi) + Vemurafenib (BRAFi) (\square); (c) Compuesto D (O); o (d) Trametinib + Vemurafenib + Compuesto D (O). Los tratamientos se iniciaron cuando el tamaño promedio del tumor fue ~ 60 mm³. Los tumores progresaron agresivamente en todos los ratones tratados con Trametinib + Vemurafenib, mientras que el tratamiento combinado de Trametinib + Vemurafenib con el Compuesto D indujo la regresión tumoral en todos los ratones de este grupo y ninguno de ellos volvió a crecer durante el tratamiento. Valores de P de Trametinib + Vemurafenib + Compuesto D vs. Trametinib + Vemurafenib = 0,0001.

Figura 12. El compuesto D se sinergia con el inhibidor de MEK, Trametinib, para inducir la regresión tumoral en ratones implantados con tumor de un paciente con carcinoma adenoide cíclico que alberga mutación en BRAF. Los ratones fueron tratados con (a) vehículo (\diamond); (b) Trametinib (\square); (c) Compuesto D (O); o (d) Trametinib + Compuesto D (O). Los tratamientos se iniciaron cuando el tamaño promedio del tumor fue de ~ 65 mm³. El tratamiento con Trametinib indujo la regresión tumoral, pero mientras estaba en tratamiento, los tumores progresaron. El tratamiento combinado de Trametinib y el Compuesto D indujo la regresión tumoral y ninguno de estos tumores volvió a crecer durante el tratamiento. El estudio incluyó dos fases de tratamientos día0 - día13 y día24 - día31.

Figura 13. El compuesto D vuelve a sensibilizar los tumores resistentes a gemcitabina a gemcitabina en ratones implantados con tumor de una metástasis hepática de un paciente con cáncer de páncreas. **A**. Los ratones fueron tratados con gemcitabina durante 35 días y una semana después los tumores en regresión adquirieron resistencia a la gemcitabina y progresaron. En este punto, cuando el tamaño promedio del tumor

ya era $\sim 110 \text{ mm}^3$, los ratones tratados con gemcitabina se dividieron en dos grupos: (a) gemcitabina (\square); (b) Gemcitabina + Compuesto D (O). Si bien todos los tumores tratados con gemcitabina progresaron, el tratamiento combinado con el compuesto D + gemcitabina condujo a una regresión tumoral en la mitad del grupo y a una inhibición significativa del crecimiento tumoral en términos del tamaño tumoral promedio del grupo en comparación con el grupo tratado con gemcitabina (valor $p = 7,35 \cdot 10^{-5}$). **B.** En el final del experimento, piezas de tumor, similares en tamaño, se cultivaron en placas (3 tumores por grupo) para probar su viabilidad y actividad proliferativa. Nueve días después, las placas se fijaron y se tiñeron, mostrando una proliferación masiva en los tumores tratados con gemcitabina en oposición a una actividad proliferativa muy baja a insignificante en los tumores de ratones tratados con Gemcitabina + Compuesto D.

Figura 14. El Compuesto D previene la resistencia adquirida a Cetuximab en ratones implantados con un tumor de un paciente metastásico adenocarcinoma anexial. Los ratones fueron tratados durante 32 días con (a) vehículo (\diamond); (b) Compuesto D (O); (c) Cetuximab (\square); (d) Cetuximab + Compuesto D (O). Los tratamientos se iniciaron cuando el tamaño promedio del tumor fue $\sim 90 \text{ mm}^3$. El tratamiento con Cetuximab condujo a una atenuación transitoria del crecimiento tumoral seguida de resistencia adquirida a Cetuximab, mientras que el tratamiento combinado de Cetuximab + Compuesto D indujo la regresión tumoral y evitó la resistencia adquirida a Cetuximab.

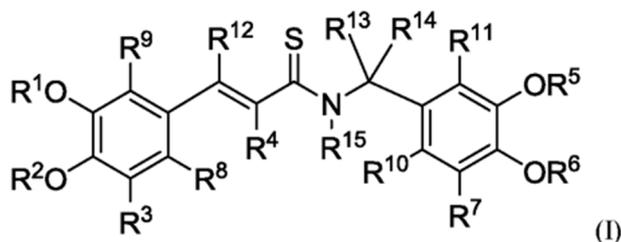
Figura 15. El compuesto D previene la resistencia adquirida al tratamiento combinado de Cetuximab y FOLFIRI (un tratamiento aprobado para pacientes con cáncer de colon) en ratones implantados con un tumor de un paciente con cáncer de colon. Los ratones fueron tratados durante 14 días con (a) vehículo (\diamond); (b) Compuesto D (O); (c) Cetuximab + FOLFIRI (\square); (d) Cetuximab + FOLFIRI + Compuesto D (O); (e) FOLFIRI (\blacksquare); y (f) Cetuximab (\blacksquare , línea discontinua). Los tratamientos se iniciaron cuando el tamaño promedio del tumor fue $\sim 110 \text{ mm}^3$. Tratamiento combinado de Cetuximab + FOLFIRI con o sin regresión tumoral inducida por el Compuesto D en la primera semana de tratamiento. Mientras que todos los tumores en ratones tratados con Cetuximab + FOLFIRI desarrolló resistencia al tratamiento durante la segunda semana de tratamiento y progresó agresivamente, el tratamiento combinado con el Compuesto D evitó la resistencia adquirida a Cetuximab + FOLFIRI.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA PRESENTE INVENCION

[0099] La presente invención se limita estrictamente a la definición proporcionada en las reivindicaciones adjuntas. Otros artículos etiquetados a continuación como realizaciones o aspectos de la invención que no entran dentro del alcance de las reivindicaciones son meramente ilustrativos y con el único propósito de divulgación. La descripción se refiere al tratamiento del cáncer usando una terapia combinada que comprende un modulador dual del sustrato del receptor de insulina (IRS) y un transductor de señal y activador de la transcripción 3 (Stat3), en combinación con (i) un modulador de una quinasa de proteína (PK) seleccionada de un inhibidor del factor de crecimiento epidérmico (inhibidor de EGFR) y un anticuerpo de EGFR; (ii) un inhibidor de la diana de rapamicina en mamíferos (mTOR); (iii) un inhibidor de la quinasa de proteína activada por mitógeno (MEK); (iv) un inhibidor de B-Raf mutada; (v) un agente quimioterapéutico como gemcitabina, 5-FU, irinotecán y oxaliplatino; y (vi) ciertas combinaciones de los mismos. La combinación se puede usar para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor de EGFR, anticuerpo EGFR, inhibidor de mTOR, inhibidor de MEK, inhibidor de B-Raf mutada, agentes quimioterapéuticos y ciertas combinaciones de los mismos, o para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a cualquiera de dichos inhibidores o agentes, o para prevenir la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con cualquiera de dichos inhibidores o agentes o una combinación de los mismos. La combinación proporciona un efecto terapéutico que es al menos aditivo, y preferiblemente es sinérgico. La presente invención se refiere además al tratamiento del cáncer usando una terapia combinada que comprende un modulador dual de IRS y Stat3, en combinación con un agente de inmunoterapia. La combinación se puede usar para sensibilizar un tumor a la inmunoterapia.

[0100] Sustrato del receptor de insulina (IRS)/transductor de señal y activador de la transcripción 3 (Stat3) Moduladores Duales

[0101] Cualquier compuesto de la estructura general de fórmula (I) puede usarse en las composiciones de la presente invención:

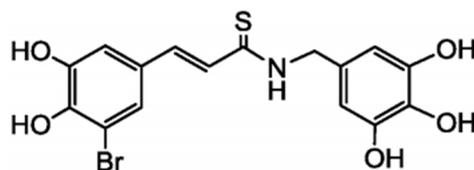


en donde

R¹, R², R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente de H, C₁-C₄ alquilo, C₂-C₆ alqueno, C₂-C₆ alquino, C₁-C₄ alquilo-C₂-C₆ alqueno, C₁-C₄ alquilo-C₂-C₆ alquino, (CH₂CH₂O)_nH, C₃-C₇ cicloalquilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, (C₁-C₄)-alquilarilo, (C₁-C₄)-alquilheterociclilo, (C₁-C₄)-alquilheteroarilo, haloalquilo, acilo y un grupo funcional que da lugar a hidroxilo después de la hidrólisis;

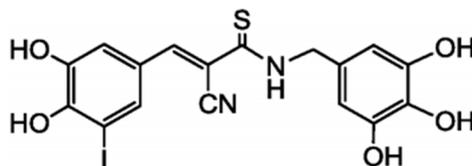
R³, R⁴, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³ y R¹⁴ se seleccionan cada uno independientemente de H, C₁-C₄ alquilo, C₂-C₆ alqueno, C₂-C₆ alquino, C₁-C₄ alquilo-C₂-C₆ alqueno, C₁-C₄ alquilo-C₂-C₆ alquino, C₃-C₇ cicloalquilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, (C₁-C₄)-alquilarilo, alquilheterociclilo (C₁-C₄), alquilheteroarilo (C₁-C₄), halógeno, haloalquilo, NO₂, CN, N₃, SO₂R^a, COOR^a, CSNR^aR^b, CSOR^a, OR^a, CONR^aR^b, NR^aR^b, SR^a y CH₂SR^a, en donde R^a y R^b son cada uno independientemente H, C₁-C₄ alquilo, C₂-C₆ alqueno, C₂-C₆ alquino, C₁-C₄ alquilo-C₂-C₆ alqueno, C₁-C₄ alquilo-C₂-C₆ alquino, C₃-C₇ cicloalquilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, alquilarilo (C₁-C₄), alquilheterociclilo (C₁-C₄), alquilo (C₁-C₄)-heteroarilo, haloalquilo, (CH₂CH₂O)_nH, acilo o un grupo funcional que da lugar a hidroxilo por hidrólisis; y R¹⁵ es H, C₁-C₄ alquilo, C₂-C₆ alqueno, C₂-C₆ alquino, C₁-C₄ alquilo-C₂-C₆ alqueno, C₁-C₄ alquilo-C₂-C₆ alquino, haloalquilo, o OR^b en donde R^b es independientemente H o C₁-C₄ alquilo; incluyendo sales, hidratos, solvatos, polimorfos, isómeros ópticos, isómeros geométricos, enantiómeros, diastereómeros y mezclas de los mismos. Cada posibilidad representa una realización separada de la invención.

[0102] En una realización ejemplar, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula A:



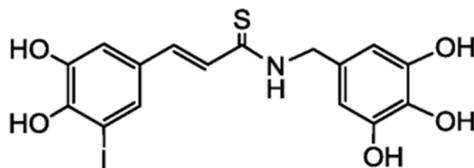
A

[0103] En otra realización ejemplar, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula B:



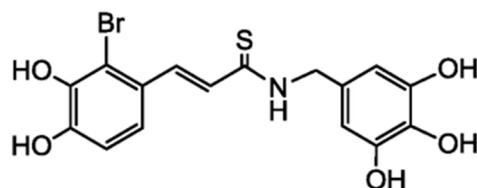
B

[0104] En otra realización ejemplar, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula C:



C

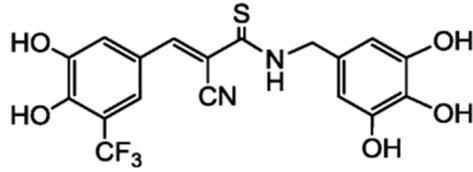
[0105] En otro ejemplo de realización, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula D:



D

[0106] En otro ejemplo de realización, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula E:

5

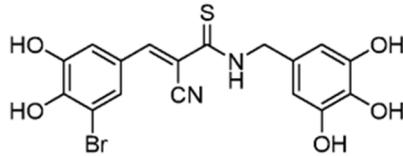


10

E

[0107] En otra realización ejemplar, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula F:

15

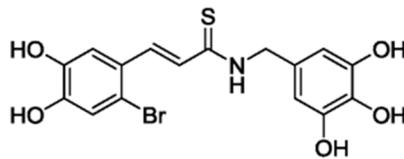


20

F

[0108] En otro ejemplo de realización, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula G:

25

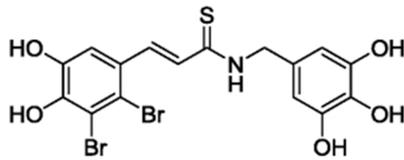


30

G

[0109] En otro ejemplo de realización, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula H:

35

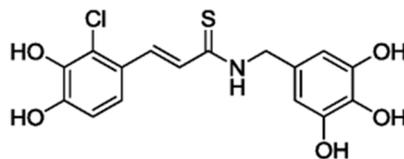


40

H

[0110] En otra realización ejemplar, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula I:

50

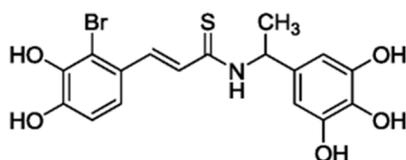


55

I

[0111] En otra realización ejemplar, el compuesto es un compuesto representado por la fórmula J:

60



65

J

[0112] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^1 , R^2 , R^4 , R^5 , R^6 , R^{10} , R^{12} , R^{13} , R^{14} y R^{15} son cada uno H; R^7 es OH; y al menos uno de R^3 , R^8 , R^9 y R^{11} es halógeno.

5 [0113] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^1 , R^2 , R^4 , R^5 , R^6 , R^8 , R^{10} , R^{12} , R^{13} , R^{14} y R^{15} son cada uno H; R^7 es OH; y al menos uno de R^3 , R^9 y R^{11} es halógeno.

[0114] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^1 , R^2 , R^5 y R^6 son cada uno H o un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis.

10 [0115] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^7 es H o OR^a y R^1 , R^2 , R^5 , R^6 , y R^a son cada uno H o un grupo funcional que da lugar a hidroxilo por hidrólisis.

15 [0116] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^{13} y R^{14} son cada uno independientemente H, C_1 - C_4 alquilo, C_2 - C_6 alquenilo, C_2 - C_6 alquinilo, C_1 - C_4 alquilo- C_2 - C_6 alquenilo o C_1 - C_4 alquilo- C_2 - C_6 alquinilo.

[0117] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde al menos uno de R^{13} y R^{14} es H o C_1 - C_4 alquilo.

20 [0118] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^3 , R^4 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} y R^{14} son cada uno independientemente H, halógeno, haloalquilo, OH, NO_2 , CN o CH_2SR^a , en donde R^a es como se definió anteriormente.

25 [0119] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^4 es H.

[0120] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^4 es CN.

[0121] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^4 , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} y R^{15} son cada uno H.

30 [0122] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^{13} , R^{14} y R^{15} son cada uno H.

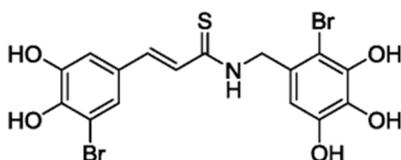
35 [0123] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^3 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, halógeno, haloalquilo, CH_2SR^a u OH; R^4 , R^{12} , R^{13} y R^{14} son cada uno independientemente H, C_1 - C_4 alquilo, C_2 - C_6 alquenilo, C_2 - C_6 alquinilo, C_1 - C_4 alquilo- C_2 - C_6 alquenilo, C_1 - C_4 alquilo- C_2 - C_6 alquinilo, arilo, halógeno, haloalquilo, NO_2 , o CN; y R^{15} es H.

40 [0124] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^3 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, halógeno, haloalquilo, OH o CH_2SR^a ; y R^4 , R^{12} , R^{13} , R^{14} y R^{15} son cada uno H, o un C_1 - C_4 alquilo.

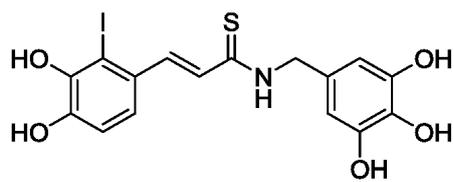
45 [0125] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde R^1 , R^2 , R^5 y R^6 son cada uno H o un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis; R^3 , R^8 y R^9 son cada uno independientemente H, halógeno, haloalquilo o CH_2SR^a ; R^7 , R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, halógeno, haloalquilo, OH o un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis; y R^4 , R^{12} , R^{13} , R^{14} y R^{15} son cada uno H, o C_1 - C_4 alquilo.

[0126] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I en donde el compuesto está representado por una cualquiera de las estructuras:

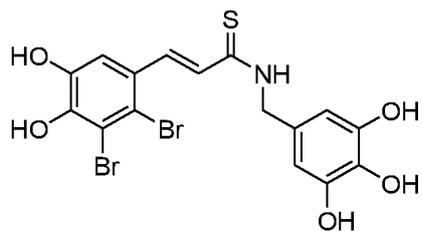
50



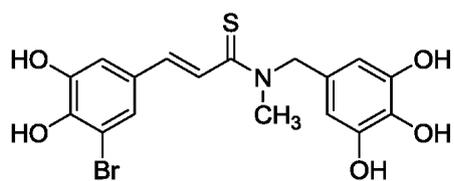
I-4



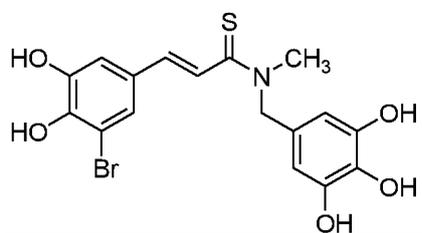
I-7



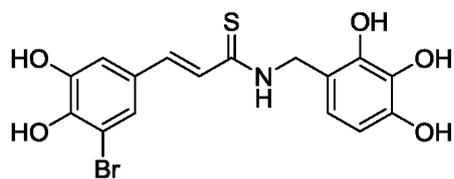
I-8b



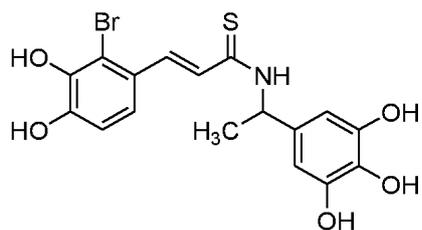
I-9a



I-9b

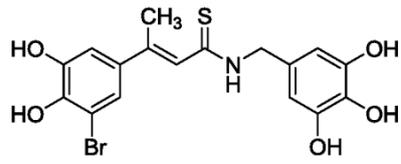


I-10



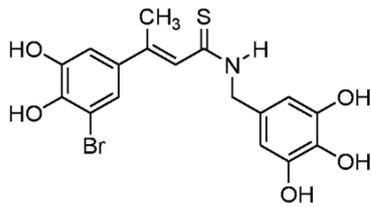
I-12b

5



I-13a

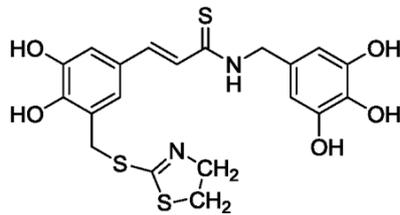
10



I-13b

15

20

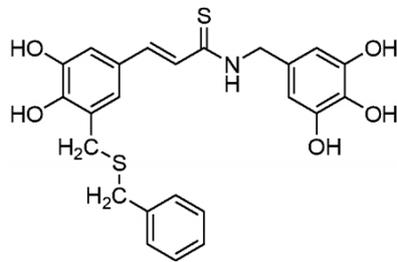


I-14

25

30

35



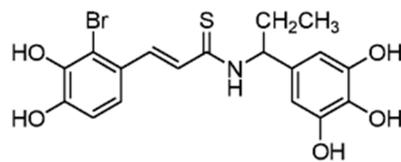
I-15

40

45

y

50



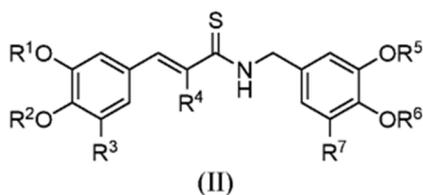
I-16

55

[0127] Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

60 [0128] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto representado por la estructura de fórmula II:

65



en donde

10 R¹, R², R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente de H, C₁-C₄ alquilo, acilo y un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis;

R³ y R⁷ se seleccionan independientemente de H, halógeno, haloalquilo y OR⁸ en donde R⁸ es H, C₁-C₄ alquilo, acilo o un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis; y

15 R⁴ es H o CN, incluidas sales, hidratos, solvatos, polimorfos, isómeros ópticos, isómeros geométricos, enantiómeros, diastereómeros y mezclas de los mismos.

[0129] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto representado por la estructura de fórmula II, en donde

20 R¹, R², R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente de H, C₁-C₄ alquilo, (CH₂CH₂O)_nH en donde n es un número entero de 1 a 20, acilo y un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis;

R³ y R⁷ se seleccionan independientemente de H, halógeno, C₁-C₄ alquilo, haloalquilo y OR¹⁶ en donde R¹⁶ es H, C₁-C₄ alquilo, (CH₂CH₂O)_nH, acilo o un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis; y

25 R⁴ es H o CN, incluidas sales, hidratos, solvatos, polimorfos, isómeros ópticos, isómeros geométricos, enantiómeros, diastereómeros y mezclas de los mismos.

[0130] Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0131] En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R⁴ es CN.

[0132] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno hidrógeno.

[0133] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno CH₃.

[0134] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R³ y R⁷ son cada uno un hidrógeno, halógeno, halometilo, OH o OCH₃.

[0135] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, R³ es halógeno y R⁷ es OH.

[0136] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, y R³ y R⁷ son cada uno halógeno.

[0137] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, R³ es halometilo y R⁷ es OH.

[0138] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, R³ es halógeno y R⁷ es H.

[0139] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, R³ es OH y R⁷ es halógeno.

[0140] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno CH₃, R³ es halógeno y R⁷ es OCH₃.

[0141] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno CH₃ y R³ y R⁷ son cada uno halógeno.

[0142] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R⁴ es hidrógeno.

[0143] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno hidrógeno.

[0144] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno

CH₃.

[0145] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R³ y R⁷ son cada uno hidrógeno, halógeno, halometilo, OH u OCH₃.

5 [0146] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, R³ es halógeno y R⁷ es OH.

10 [0147] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, y R³ y R⁷ son cada uno halógeno.

[0148] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, R³ es halometilo y R⁷ es OH.

15 [0149] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, R³ es halógeno y R⁷ es H.

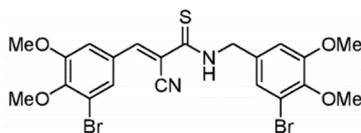
[0150] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno H, R³ es OH y R⁷ es halógeno.

20 [0151] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R³ es halógeno y R⁷ es OCH₃.

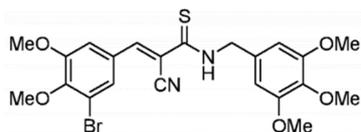
[0152] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula II en donde R¹, R², R⁵ y R⁶ son cada uno CH₃ y R³ y R⁷ son cada uno halógeno.

25 [0153] En otras realizaciones, el compuesto de fórmula (II) está representado por cualquiera de los siguientes compuestos:

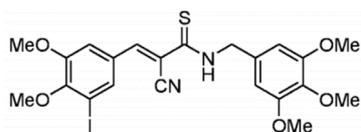
30



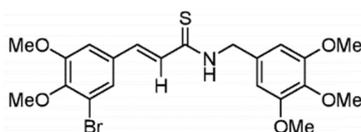
II- 2



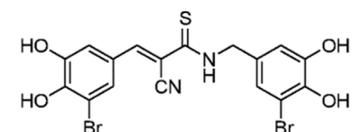
II- 3



II- 4

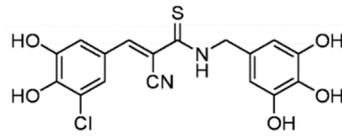


II- 5



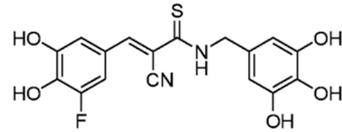
II- 6

5



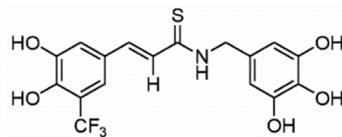
II- 11

10



II- 12

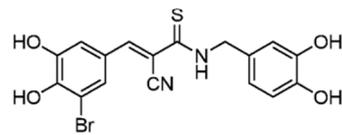
15



II- 14

20

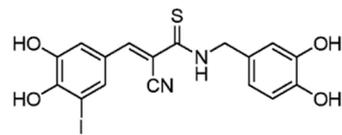
25



II- 15

30

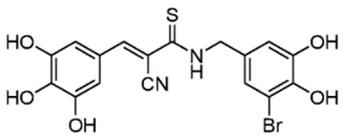
35



II- 16

40

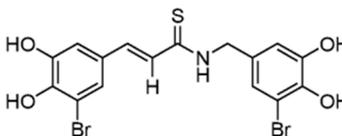
45



II- 17

50 y

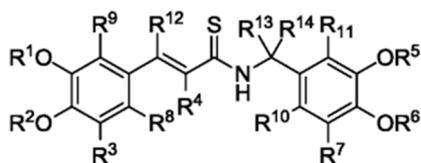
55



II- 18

60 **[0154]** Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En otra realización, el compuesto está representado por la estructura de fórmula III:

65

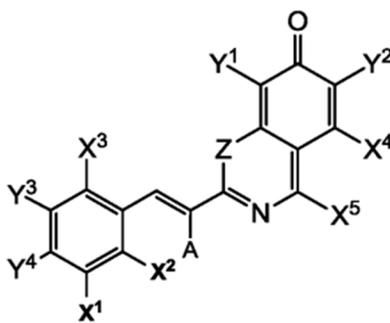


(III)

10 en donde

15 R^1 , R^2 , R^5 y R^6 se seleccionan independientemente de H, C_1 - C_4 alquilo, $(CH_2CH_2O)_nH$ en donde n es un número entero de 1 a 20, acilo y un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis; R^3 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} y R^{14} se seleccionan independientemente de H, halógeno, C_1 - C_4 alquilo, haloalquilo y OR^{16} en donde R^{16} es H, C_1 - C_4 alquilo, $(CH_2CH_2O)_nH$, acilo o un grupo funcional que da lugar a hidroxilo sobre la hidrólisis; y R^4 es H o CN.

[0155] En otras realizaciones, el compuesto está representado por la estructura de fórmula IV:



IV

35 en donde

40 A es H o CN;
 Z es S, SO o SO_2 ;
 X^1 , X^2 , X^3 , X^4 , X^5 , Y^1 e Y^2 se seleccionan cada uno independientemente de H, halógeno, alquilo, haloalquilo y OR^1 ; e
 Y^3 e Y^4 son cada uno OR^1 , en donde cada R^1 es independientemente H, C_1 - C_4 alquilo, $(CH_2CH_2O)_nH$ en donde n es un número entero de 1 a 20, acilo o un grupo funcional que da lugar al hidroxilo tras la hidrólisis, que incluye sales, hidratos, solvatos, polimorfos, isómeros ópticos, isómeros geométricos, enantiómeros, diastereómeros y mezclas de los mismos.

45 [0156] En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde A es H.

[0157] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde A es CN.

50 [0158] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde Z es S.

[0159] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde Z es SO_2 .

55 [0160] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde al menos uno de X^1 , X^2 , X^3 , X^4 , Y^1 e Y^2 es un halógeno.

[0161] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde al menos uno de X^1 , X^2 , X^3 , X^4 , Y^1 e Y^2 es Br.

60 [0162] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde al menos uno de X^1 , X^2 , X^3 , X^4 , Y^1 e Y^2 es I.

[0163] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde X^1 , X^2 , X^3 , y X^4 se seleccionan cada uno entre H o un halógeno, donde el halógeno es preferiblemente Br o I.

65 [0164] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde X^2 es H.

[0165] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde X^5 es H.

5 [0166] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde X^5 es alquilo, preferiblemente metilo.

[0167] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde Y^3 e Y^4 son cada uno OH.

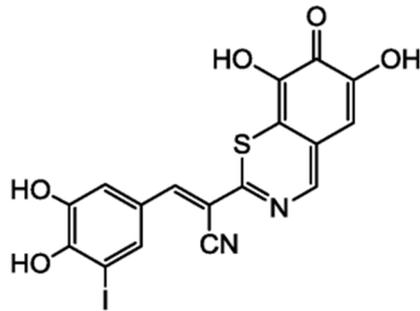
10 [0168] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde Y^1 e Y^2 son cada uno OH.

[0169] En otras realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula IV en donde A es H, Z es S, Y^3 e Y^4 son cada uno OH, y X^1 es un halógeno seleccionado de Br e I.

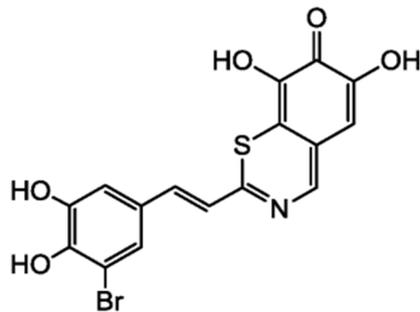
15 [0170] Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0171] En otras realizaciones, el compuesto de fórmula (IV) está representado por cualquiera de los siguientes compuestos:

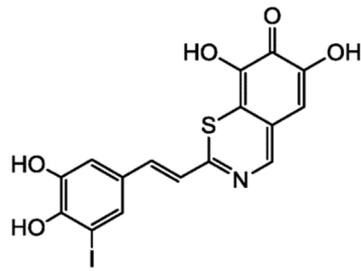
20



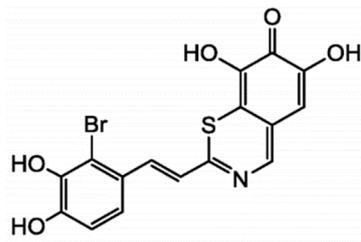
IV-1



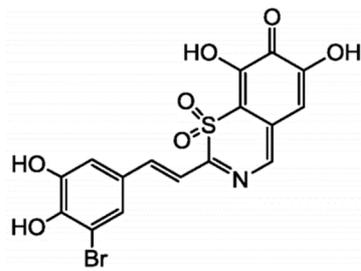
IV-2



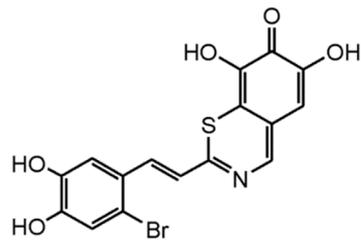
IV-3



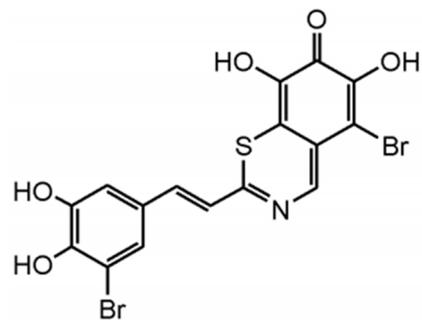
IV-4



IV-5

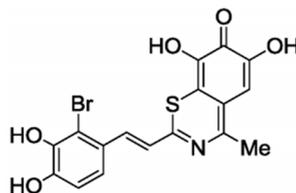


IV-6



IV-7

y



IV-8

[0172] Un compuesto actualmente preferido de fórmula IV es un compuesto de fórmula IV-4.

[0173] En otras realizaciones, el compuesto es cualquiera de los derivados descritos en **A)** Publicación de Solicitud de Patente Internacional PCT N° WO 2008/068751; **B)** Publicación de Solicitud de Patente Internacional PCT N° WO 2009/147682; o **C)** Solicitud de Patente Internacional PCT N° WO 2012/090204. Los contenidos de cada una de las referencias mencionadas anteriormente se incorporan por referencia en este documento en su totalidad como si se establecieran completamente en este documento.

[0174] Se entiende que todos los conformadores, isómeros geométricos, estereoisómeros, enantiómeros y diastereómeros de cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento, están abarcados y pueden usarse en las combinaciones y métodos descritos por la presente solicitud.

[0175] Sin estar vinculado a ninguna teoría o mecanismo de acción particular, se contempla que los compuestos de la presente invención son inhibidores de la señalización de PK, tales como IGF-1R. Ahora se ha encontrado sorprendentemente que estos compuestos, además de ser inhibidores de IGF-1R, también conducen a la disociación de los sustratos de IGF-1R IRS1/2 de la membrana celular, la fosforilación de serina inhibidora y/o la degradación de las proteínas IRS1/2. Esta actividad conduce a una inhibición duradera de las vías IGF-1R e IR, inhibición del crecimiento de una amplia gama de tipos de células cancerosas y potentes efectos antitumorales. Por lo tanto, estos compuestos se denominan "moduladores de IRS". Por lo tanto, en otra realización, la presente invención proporciona un método para inhibir, tratar o prevenir un trastorno relacionado con la señalización de receptor 1 del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1R) y/o el sustrato 1 del receptor de insulina (IRS1) y/o el sustrato 2 del receptor de insulina (IRS2) en un sujeto que comprende la etapa de administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un compuesto representado por la estructura de fórmula I o cualquiera de los compuestos cubiertos por dicha fórmula, junto con un agente contra el cáncer seleccionado de inhibidor de EGFR, anticuerpo de EGFR, inhibidor de mTOR y/o agente de inmunoterapia, en donde el compuesto de fórmula I y el agente anticancerígeno juntos proporcionan un efecto anticanceroso que es al menos aditivo, y preferiblemente es sinérgico. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I es un inhibidor de un receptor de insulina o una señalización del receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina (IGF-1R), y/o el compuesto de fórmula I interactúa, afecta o inhibe una proteína de sustrato en la vía mediada por IGF-1R. En algunas realizaciones, la proteína de sustrato es el sustrato receptor de insulina 1 (IRS1), el sustrato receptor de insulina 2 (IRS2), o una combinación de los mismos. En una realización particular, el compuesto de fórmula I es un inhibidor de la quinasa IGF-1R que conduce a al menos una de la disociación de IRS1 o IRS2 de la membrana celular, fosforilación de IRS1 o IRS2, y/o degradación de IRS 1 o IRS2, en cualquier orden.

[0176] IGF1R y específicamente IRS1 son uno de los mecanismos clave para la resistencia a la inhibición de EGFR (Buck E. et al. Feedback mechanisms promote cooperativity for small molecule inhibitors of epidermal and insulin-like growth factor receptors. Cancer Res. 2008 15 de octubre; 68(20):8322-32).

[0177] Los compuestos descritos aquí son también moduladores de transductor de señal y activador de la transcripción 3 (Stat3). En algunas realizaciones, los compuestos conducen a la inhibición de la fosforilación de Stat3 en células cancerosas. Se detectan niveles aumentados de fosforilación de Stat3 en varios tipos de cáncer y cánceres resistentes a los medicamentos, lo que aumenta la supervivencia del cáncer. Sin desear limitarse a ninguna teoría o mecanismo de acción en particular, se contempla que la inhibición de la actividad de Stat3 puede sinergizar con dichos fármacos inhibidores de PK, que como efecto secundario regulan al alza Stat3, pueden prevenir la resistencia adquirida a dichos fármacos y pueden ser eficaces para cánceres resistentes a los fármacos. Además, Stat3 a menudo se activa en el cáncer y participa directamente en la implementación y el mantenimiento del microambiente inmunosupresor del cáncer y desempeña un papel central en la evasión inmune del tumor. Sin desear limitarse a ninguna teoría o mecanismo de acción en particular, se contempla que la inhibición de la fosforilación de Stat3 desenmascara el tumor del sistema inmune local y los sensibiliza a la inmunoterapia, por ejemplo, anticuerpos contra PDL, PD1, CTLA4 o cualquier otro agente de inmunoterapia.

Definiciones químicas:

[0178] Un grupo "alquilo" se refiere a cualquier hidrocarburo alifático saturado, incluyendo grupos alquilo de cadena

lineal y de cadena ramificada. En una realización, el grupo alquilo tiene 1-12 átomos de carbono designados aquí como C₁-C₁₂ alquilo. En otra realización, el grupo alquilo tiene 1-6 carbonos designados aquí como C₁-C₆-alquilo. En otra realización, el grupo alquilo tiene 1-4 carbonos designados aquí como C₁-C₄ alquilo. El grupo alquilo puede estar no sustituido o sustituido con uno o más grupos seleccionados de halógeno, hidroxilo, alcoxicarbonilo, amido, alquilamido, dialquilamido, nitro, amino, alquilamino, dialquilamino, carboxilo, tio y tionalquilo.

[0179] Un grupo "alqueno" se refiere a un grupo hidrocarbonado alifático que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono que incluye grupos alqueno de cadena lineal, cadena ramificada y cíclica. En una realización, el grupo alqueno tiene 2-8 átomos de carbono designados aquí como C₂-C₈ alqueno. En otra realización, el grupo alqueno tiene 2-6 átomos de carbono en la cadena designada aquí como C₂-C₆ alqueno. Los ejemplos de grupos alqueno incluyen etenilo, propenilo, n-butenilo, i-butenilo, 3-metilbut-2-enilo, n-pentenilo, heptenilo, octenilo, ciclohexil-butenilo y decenilo. El grupo alqueno puede estar no sustituido o sustituido a través de átomos de carbono disponibles con uno o más grupos definidos anteriormente para alquilo.

[0180] Un grupo "alquino" se refiere a un grupo hidrocarbonado alifático que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono que incluye cadena lineal y cadena ramificada. En una realización, el grupo alquino tiene 2-8 átomos de carbono en la cadena designada aquí como C₂-C₈ alquino. En otra realización, el grupo alquino tiene 2-6 átomos de carbono en la cadena designada aquí como C₂-C₆ alquino. Los ejemplos de grupos alquino incluyen etinilo, propinilo, n-butinilo, 2-butinilo, 3-metilbutinilo, n-pentinilo, heptinilo, octinilo y decinilo. El grupo alquino puede estar no sustituido o sustituido a través de átomos de carbono disponibles con uno o más grupos definidos anteriormente para alquilo.

[0181] El término "C₃-C₇ cicloalquilo" se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a cualquier grupo monocíclico o policíclico saturado o insaturado (por ejemplo, cicloalqueno, cicloalquino). Ejemplos no limitativos de grupos cicloalquilo son ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo. Ejemplos no limitantes de grupos cicloalqueno incluyen ciclopentenilo, ciclohexenilo y similares. El grupo cicloalquilo puede estar no sustituido o sustituido con uno cualquiera o más de los sustituyentes definidos anteriormente para alquilo. De manera similar, el término "cicloalqueno" significa un cicloalquilo bivalente, como se definió anteriormente, donde el radical cicloalquilo está unido en dos posiciones que conectan dos grupos adicionales separados.

[0182] El término "arilo" usado aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a un sistema de anillo aromático que contiene de 6 a 14 átomos de carbono en el anillo. El anillo de arilo puede ser monocíclico, bicíclico, tricíclico y similares. Ejemplos no limitativos de grupos arilo son fenilo, naftilo incluyendo 1-naftilo y 2-naftilo, y similares. El grupo arilo puede estar sin sustituir o sustituido a través de átomos de carbono disponibles con uno o más grupos definidos anteriormente para alquilo.

[0183] El término "heteroarilo" usado aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a un sistema heteroaromático que contiene al menos un anillo de heteroátomo en donde el átomo se selecciona de nitrógeno, azufre y oxígeno. El heteroarilo contiene 5 o más átomos en el anillo. El grupo heteroarilo puede ser monocíclico, bicíclico, tricíclico y similares. También se incluyen en esta definición los anillos benzoheterocíclicos. Si el nitrógeno es un átomo del anillo, la presente invención también contempla los N-óxidos de los heteroarilos que contienen nitrógeno. Ejemplos de heteroarilos no limitantes incluyen tienilo, benzotienilo, 1-naftotienilo, tiantrenilo, furilo, benzofurilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, indolilo, isoindolilo, indazolilo, purinilo, isoquinolilo, quinolilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinolinilo, pteridinilo, carbolinilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo y similares. El grupo heteroarilo puede estar no sustituido o sustituido a través de átomos disponibles con uno o más grupos definidos anteriormente para alquilo.

[0184] El término "anillo heterocíclico" o "heterocíclico" usado aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a anillos de cinco miembros a ocho miembros que tienen 1 a 4 heteroátomos, tales como oxígeno, azufre y/o nitrógeno, en particular nitrógeno, solo o junto con átomos de azufre u oxígeno en el anillo. Estos anillos de cinco miembros a ocho miembros pueden estar saturados, completamente insaturados o parcialmente insaturados, prefiriéndose los anillos completamente saturados. Anillos heterocíclicos preferidos incluyen piperidinilo, pirrolinilo, pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piranilo, tiopiranilo, piperazinilo, indolinilo, dihidrofurano, tetrahidrofurano, dihidrotiofenilo, tetrahidrotiofenilo, dihidropirano, tetrahidropirano, dihidrotiazolilo, y similares. El grupo heterocíclico puede estar no sustituido o sustituido a través de átomos disponibles con uno o más grupos definidos anteriormente para alquilo.

[0185] El término "acilo" como se usa en el presente documento abarca grupos tales como, pero sin limitación, formilo, acetilo, propionilo, butirilo, pentanoilo, pivaloilo, hexanoilo, heptanoilo, octanoilo, nonanoilo, decanoilo, undecanoilo, dodecanoilo, benzoilo y similares. Los grupos acilo preferidos actualmente son acetilo y benzoilo.

[0186] Un grupo "hidroxi" se refiere a un grupo OH. Un grupo "alcoxi" se refiere a un grupo -O-alquilo en donde R es alquilo como se definió anteriormente.

[0187] Un grupo "tio" se refiere a un grupo -SH. Un grupo "alquiltio" se refiere a un grupo -SR en donde R es alquilo como se definió anteriormente.

[0188] Un grupo "amino" se refiere a un grupo NH_2 . Un grupo alquilamino se refiere a un grupo $-\text{NHR}$ en donde R es alquilo como se definió anteriormente. Un grupo dialquilamino se refiere a un grupo $-\text{NRR}'$ en donde R y R' son alquilo como se definió anteriormente.

5 [0189] Un grupo "amido" se refiere a un grupo $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$. Un grupo alquilamido se refiere a un grupo $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}$ en donde R es alquilo es como se definió anteriormente. Un grupo dialquilamido se refiere a un grupo $-\text{C}(\text{O})\text{NRR}'$ en donde R y R' son alquilo como se definió anteriormente.

10 [0190] Un grupo "tioamida" se refiere a un grupo $-\text{C}(\text{S})\text{NHR}$, donde R es alquilo, arilo, alquilarilo o H.

[0191] Un grupo "polioxialquilenos" se refiere a un grupo $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$ en donde $n=1-20$. Los grupos de polioxialquilenos actualmente preferidos son polietilenglicol (PEG) y polipropilenglicol.

15 [0192] El término "halógeno" o "halo" como se usa en este documento solo o como parte de otro grupo se refiere a cloro, bromo, flúor y yodo. El término "haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo que tiene algunos o todos los hidrógenos reemplazados independientemente por un grupo halógeno que incluye, pero no se limita a, triclorometilo, tribromometilo, trifluorometilo, triyodometilo, difluorometilo, clorodifluorometilo, pentafluoroetilo, 1,1-difluoroetilo bromometilo, clorometilo, fluorometilo, yodometilo y similares.

20 [0193] Los ejemplos de grupos funcionales que dan lugar a hidroxilo tras la hidrólisis incluyen, pero no se limitan a, ésteres, anhídridos, carbamatos, carbonatos y similares. Por ejemplo, cuando cualquiera de R^1 , R^2 , R^5 o R^6 es un grupo acilo (COR), el grupo funcional resultante es un éster (OCOR). Cuando cualquiera de R^1 , R^2 , R^5 o R^6 es un grupo amida (CONHR), el grupo funcional resultante es un carbamato (OCONHR). Cuando cualquiera de R^1 , R^2 , R^5 o R^6 es un grupo carboxilato (COOR), el grupo funcional resultante es un carbonato (OCOOR).

25 [0194] Dentro del alcance de la presente invención están los profármacos de los compuestos descritos aquí. El término "profármaco" representa compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* en cualquiera de los compuestos representados por la fórmula I, por ejemplo, por hidrólisis en la sangre. Por lo tanto, el término "profármaco" se refiere a un precursor de cualquiera de los compuestos de la presente invención que es farmacéuticamente aceptable. Un profármaco puede estar inactivo cuando se administra a un sujeto, pero se convierte *in vivo* en un compuesto activo. El uso de profármacos es particularmente ventajoso para facilitar la administración de los compuestos. El compuesto profármaco a menudo ofrece beneficios de solubilidad, compatibilidad tisular o liberación retardada en un organismo mamífero. Por ejemplo, el profármaco, de acuerdo con los principios de la presente invención, puede ser un compuesto representado por la estructura de fórmula I en donde R^1 , R^2 , R^5 y R^6 son un grupo funcional que da lugar a hidroxilo tras la hidrólisis como se define aquí arriba.

30 [0195] Se contemplan todos los estereoisómeros de los compuestos anteriores, ya sea en mezcla o en forma pura o forma sustancialmente pura. Los compuestos pueden tener centros asimétricos en cualquiera de los átomos. En consecuencia, los compuestos pueden existir en formas enantioméricas o diastereoméricas o en mezclas de los mismos. La presente invención contempla el uso de cualquier racemato (es decir, mezclas que contienen cantidades iguales de cada enantiómero), mezclas enriquecidas enantioméricamente (es decir, mezclas enriquecidas para un enantiómero), enantiómeros o diastereómeros puros, o cualquier mezcla de los mismos. Los centros quirales pueden designarse como R o S o R, S o d, D, 1, L o d, 1, D, L. Los compuestos que comprenden residuos de aminoácidos incluyen residuos de D-aminoácidos, L-aminoácidos o derivados racémicos de aminoácidos. Los compuestos que comprenden residuos de azúcar incluyen residuos de azúcares D, azúcares L o derivados racémicos de azúcares. Se prefieren los residuos de azúcares D, que aparecen en la naturaleza. Además, varios de los compuestos de la invención contienen uno o más dobles enlaces. La presente invención pretende abarcar todos los isómeros estructurales y geométricos, incluidos los isómeros cis, trans, E y Z, independientemente en cada caso.

35 [0196] Uno o más de los compuestos de la invención, pueden estar presentes como una sal. El término "sal" abarca sales de adición de ácido y básicas, que incluyen, pero no se limitan a, sales de carboxilato o sales con nitrógenos de amina, e incluyen sales formadas con los aniones y cationes orgánicos e inorgánicos que se analizan a continuación. Además, el término incluye sales que se forman mediante reacciones ácido-base estándar con grupos básicos (como grupos amino) y ácidos orgánicos o inorgánicos. Dichos ácidos incluyen clorhídrico, fluorhídrico, trifluoroacético, sulfúrico, fosfórico, acético, succínico, cítrico, láctico, maleico, fumárico, palmítico, cólico, pamoico, mucico, D-glutámico, D-alcanfórico, glutámico, ftálico, tartárico, láurico, esteárico, salicílico, metanosulfónico, bencenosulfónico, sórbico, pírcico, benzoico, cinámico y ácidos similares. Cada posibilidad representa una realización separada de la invención.

40 [0197] El término "catión orgánico o inorgánico" se refiere a contraiones para el anión de una sal. Los contraiones incluyen, entre otros, metales alcalinos y alcalinotérreos (como litio, sodio, potasio, bario, aluminio y calcio); amonio y mono-, di- y tri-alquilaminas como trimetilamina, ciclohexilamina; y los cationes orgánicos, tales como dibencilamonio, bencilamonio, 2-hidroxiethylamonio, bis(2-hidroxiethyl)amonio, feniletibencilamonio, dibenciletildiamonio y cationes similares. Ver, por ejemplo, Berge et al., J. Pharm. Sci. (1977), 66: 1-19, que se incorpora aquí como referencia.

[0198] La presente invención también incluye solvatos de los compuestos de la presente invención y sales de los mismos. "Solvato" significa una asociación física de un compuesto de la invención con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física implica diversos grados de enlace iónico y covalente, incluido el enlace de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato será capaz de aislamiento. "Solvato" abarca tanto la fase de solución como los solvatos aislables. Ejemplos no limitantes de solvatos adecuados incluyen etanolatos, metanolatos y similares. "Hidrato" es un solvato en donde la molécula disolvente es agua.

[0199] La presente invención también incluye los polimorfos de los compuestos de la presente invención y sales de los mismos. El término "polimorfo" se refiere a un estado cristalino o amorfo particular de una sustancia, que puede caracterizarse por propiedades físicas particulares tales como difracción de rayos X, espectros IR o Raman, punto de fusión y similares.

Moduladores duales IRS/Stat3 e inhibidores de EGFR/combinaciones de anticuerpos

[0200] En una realización, la presente invención se refiere a un método para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y/o anticuerpo EGFR, el método que comprende la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de EGFR y/o un anticuerpo EGFR en combinación con un compuesto de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), o cualquiera de los compuestos individuales cubiertos por tales fórmulas.

[0201] En otra realización, la presente invención se refiere a un método para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y/o anticuerpo EGFR, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR en combinación con un compuesto de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), o cualquiera de los compuestos individuales cubiertos por tales fórmulas.

[0202] En otra realización, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), o cualquiera de los compuestos individuales cubierto por tales fórmulas, en combinación con un inhibidor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y/o un anticuerpo EGFR.

[0203] En otras realizaciones, la presente invención se refiere además a la combinación como se describe anteriormente para su uso en el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR.

[0204] En otras realizaciones, la presente invención se refiere además al uso de la combinación descrita anteriormente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR.

[0205] En algunas realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene tumores con resistencia adquirida al inhibidor de EGFR y/o tratamiento con anticuerpo de EGFR. En otras realizaciones, el tratamiento da como resultado atenuación o regresión en el crecimiento de los tumores resistentes. En otras realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo tratamiento con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR o es un candidato para recibir dicho tratamiento.

[0206] Cualquier inhibidor o anticuerpo EGFR conocido por una persona experta en la técnica puede usarse en las combinaciones de la presente invención. En algunas realizaciones, el inhibidor de EGFR se selecciona del grupo que consiste en erlotinib, gefitinib, lapatinib, vandetanib, neratinib, icotinib, afatinib, dacomitinib, poziotinib, AZD9291, CO-1686, HM61713 y AP26113. En una realización actualmente preferida, el inhibidor de EGFR es erlotinib. En una realización específica, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D y el inhibidor de EGFR es erlotinib. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0207] En algunas realizaciones, el anticuerpo EGFR se selecciona del grupo que consiste en trastuzumab, necitumumab, cetuximab y panitumumab. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0208] En una realización, el compuesto es un compuesto de fórmula A. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula B. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula C. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula D. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula E. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula F. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula G. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula H. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula J. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula IV-4. En una realización actualmente preferida, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D. Sin embargo, es evidente para un experto en la técnica que cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento puede usarse en las combinaciones de la presente invención.

Moduladores duales IRS/Stat3 y combinaciones de inhibidores mTOR

5 **[0209]** En otros aspectos de la presente invención, ahora se ha encontrado inesperadamente que una combinación de un modulador dual IRS/Stat3 de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), o cualquiera de los compuestos individuales cubiertos por las fórmulas descritas en este documento, y un inhibidor de la diana de rapamicina en mamíferos (mTOR), proporciona un efecto terapéutico que es al menos aditivo, y preferiblemente es sinérgico en comparación con el efecto del tratamiento de cada agente solo. Además, la combinación se puede utilizar para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor mTOR, y/o para prevenir la resistencia adquirida de un tumor al inhibidor de mTOR.

10 **[0210]** Por consiguiente, en una realización, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), o cualquiera de los compuestos individuales cubierto por tales fórmulas y al menos un inhibidor de la diana de rapamicina de mamífero (mTOR), en donde el compuesto y el al menos un inhibidor de mTOR juntos proporcionan un efecto antineoplásico terapéutico sinérgico.

15 **[0211]** En otra realización, la presente invención se refiere a un método de tratamiento del cáncer, que comprende la etapa de administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), y al menos un inhibidor de la diana de rapamicina de mamífero (mTOR), en donde el compuesto y al menos un inhibidor de mTOR juntos proporcionan un efecto terapéutico sinérgico.

20 **[0212]** En otra realización, la presente invención se refiere a un método para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a una diana de mamífero inhibidor de la rapamicina (mTOR), comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con el inhibidor de mTOR en combinación con un compuesto de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), o cualquiera de los compuestos individuales cubiertos por tales fórmulas.

25 **[0213]** En otra realización, la presente invención se refiere a un método para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a una diana de mamífero inhibidor de rapamicina (mTOR), comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de mTOR en combinación con un compuesto de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), o cualquiera de los compuestos individuales cubiertos por tales fórmulas.

30 **[0214]** En otras realizaciones, la presente invención se refiere además a la combinación como se describe anteriormente para su uso en el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de mTOR, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de mTOR.

35 **[0215]** En otras realizaciones, la presente invención se refiere además al uso de la combinación descrita anteriormente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de mTOR, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de mTOR.

40 **[0216]** En otras realizaciones, la presente invención se refiere además a una combinación como se describe anteriormente, para usar en el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de mTOR, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de mTOR.

45 **[0217]** En algunas realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene tumores con resistencia adquirida al tratamiento con inhibidor de mTOR. En otras realizaciones, el tratamiento da como resultado atenuación o regresión en el crecimiento de los tumores resistentes. En otras realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo tratamiento con un inhibidor de mTOR o es un candidato para recibir dicho tratamiento.

50 **[0218]** Cualquier inhibidor de mTOR conocido por un experto en la materia puede usarse en las combinaciones de la presente invención. En algunas realizaciones, el inhibidor de mTOR es un inhibidor de primera generación seleccionado del grupo que consiste en rapamicina (Sirolimus); Ridaforolimus (Deforolimus, AP23573, MK-8669); NVP-BEZ235 (2-metilo-2-{4-[3-metilo-2-oxo-8-(quinolina-3-ilo)-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-c]quinolina-1-ilo]fenilo}propanenitrilo); Everolimus (Afinitor, RAD-001, el derivado 40-O-(2-hidroxi-etilo) de sirolimus); y Temsirolimus (CCI-779). En una realización actualmente preferida, el inhibidor de mTOR es Everolimus.

55 **[0219]** En otras realizaciones, el inhibidor de mTOR es un compuesto de segunda generación (inhibidor de mTORC1 y mTORC2), tal como OSI-027 (trans-4-[4-Amino-5-(7-metoxi-1H-indol-2-ilo)imidazo[5,1-f][1,2,4]triazina-7-ilo]ciclohexanocarboxílico); XL765 (SAR245409); INK128 (3-(2-amino-5-benzoxazolilo)-1-(1-metiletilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina); MLN0128, AZD2014 (3-(2,4-bis((S)-3-metilmorfolino)pirido[2,3-d]pirimidina-7-ilo)-N-metilbenzamida); DS-3078a y Palomid529 (3-(4-metoxibenciloxi)-8-(1-hidroxi-etilo)-2-metoxi-6H-benzo[c]cromen-6-ona).

60 **[0220]** En una realización específica, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D y el inhibidor de mTOR es Everolimus (Afinitor).

65

[0221] En una realización, el compuesto es un compuesto de fórmula A. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula B. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula C. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula D. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula E. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula F. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula G. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula H. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula J. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula IV-4. En una realización actualmente preferida, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D. Sin embargo, es evidente para un experto en la técnica que cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento puede usarse en las combinaciones de la presente invención.

Combinaciones de moduladores duales IRS/Stat3 y agentes de inmunoterapia

[0222] En una realización, la presente invención se refiere a un método para sensibilizar un tumor a inmunoterapia, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un compuesto de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), o cualquiera de los compuestos individuales cubiertos por tales fórmulas en combinación con un agente de inmunoterapia.

[0223] En otra realización, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), o cualquiera de los compuestos individuales cubiertos por tales fórmulas, en combinación con un agente de inmunoterapia.

[0224] En otras realizaciones, la presente invención se refiere además a la combinación como se describe anteriormente para su uso en el tratamiento de un tumor mediante la sensibilización del tumor a inmunoterapia.

[0225] En otras realizaciones, la presente invención se refiere además al uso de la combinación descrita anteriormente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor mediante la sensibilización del tumor a inmunoterapia.

[0226] En algunas realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo inmunoterapia o es un candidato para recibir inmunoterapia.

[0227] Cualquier agente de inmunoterapia conocido por un experto en la materia puede usarse en la combinación de la presente invención. En algunas realizaciones, el agente de inmunoterapia es un anticuerpo contra una diana seleccionada del grupo que consiste en PDL, PD1, CTLA4, CD20, CD30, CD33, CD52, VEGF, CD30, EGFR y ErbB2. En algunas realizaciones, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en Alemtuzumab (Campath®), Bevacizumab (Avastin®), Brentuximab vedotin (Adcetris®), Cetuximab (Erbix®), Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®), Ibritumomab tiuxetan (Zevalin®), Ipilimumab (Yervoy®), Ofatumumab (Arzerra®), Panitumumab (Vectibix®), Rituximab (Rituxan®), Tositumomab (Bexxar®) y Trastuzumab (Herceptin®). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0228] En una realización, el compuesto es un compuesto de fórmula A. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula B. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula C. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula D. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula E. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula F. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula Ga. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula H. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula J. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula IV-4. En una realización actualmente preferida, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D. Sin embargo, es evidente para un experto en la técnica que cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento puede usarse en las combinaciones de la presente invención.

Combinaciones de moduladores duales IRS/Stat3 e inhibidor de la quinasa de proteína activada por mitógeno (MEK) y/o un inhibidor de B-Raf mutada

[0229] En otros aspectos, ahora se ha encontrado inesperadamente que una combinación de un modulador doble del sustrato receptor de insulina (IRS) y el transductor de señal y el activador de la transcripción 3 (Stat3), como se describe en el presente documento, y un inhibidor de la quinasa de proteína mitogénica (MEK) y/o un inhibidor de B-Raf mutada, proporciona un efecto terapéutico que es al menos aditivo, y es preferiblemente sinérgico en comparación con el efecto del tratamiento de cada agente solo. Además, la combinación se puede usar para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, y/o para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada y/o para prevenir o retrasar el retraso de la recurrencia del tumor después del cese del tratamiento con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada.

[0230] Por lo tanto, en algunas realizaciones, la presente invención se refiere a un método para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor de la quinasa de proteína activada por mitógeno (MEK) y/o un inhibidor de B-Raf mutada, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

- 5 [0231] En otras realizaciones, la presente invención se refiere a un método para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de MEK y/o inhibidor de B-Raf mutada, en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).
- 10 [0232] En otras realizaciones, la presente invención se refiere a un método para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con un inhibidor de MEK y/o inhibidor de B-Raf mutada, en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).
- 15 [0233] En otras realizaciones, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III), en combinación con un inhibidor de la quinasa de proteína activada por mitógeno (MEK), y opcionalmente un inhibidor de B-Raf mutada. En algunas realizaciones, la combinación comprende un compuesto de fórmula (III), un inhibidor de MEK y un inhibidor de B-Raf mutada preferiblemente, en donde el inhibidor de MEK es Trametinib, y el inhibidor de B-Raf mutada es Vemurafenib.
- 20 [0234] En otras realizaciones, la presente invención se refiere a un compuesto representado por la estructura de fórmula (IV), en combinación con un inhibidor de la quinasa de proteína activada por mitógeno (MEK) y/o un inhibidor de B-Raf mutada.
- 25 [0235] En algunas realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene tumores con resistencia adquirida al inhibidor de MEK y/o al tratamiento con inhibidor de B-Raf mutada. En otras realizaciones, el tratamiento da como resultado atenuación o regresión en el crecimiento de los tumores resistentes. En otras realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo tratamiento con un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada o es un candidato para recibir dicho tratamiento.
- 30 [0236] Cualquier inhibidor de MEK conocido por un experto en la materia puede usarse en las combinaciones de la presente invención. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se selecciona del grupo que consiste en Trametinib (GSK1120212), Selumetinib, Binimetinib (MEK162), PD-325901, Cobimetinib, CI-1040 y PD035901, preferiblemente, en donde el inhibidor de MEK es Trametin.
- 35 [0237] Cualquier inhibidor de B-Raf mutada conocido por una persona experta en la técnica puede usarse en las combinaciones de la presente invención. En algunas realizaciones, el inhibidor de B-Raf mutada se selecciona del grupo que consiste en Vemurafenib (PLX- 4032), PLX4720, Sorafenib (BAY43-9006) y Dabrafenib, preferiblemente, en donde el inhibidor de B-Raf mutada es Vemurafenib.
- 40 [0238] En una realización, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (III). En otra realización, el compuesto está representado por la estructura de fórmula (IV). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.
- 45 [0239] En algunas realizaciones, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D y el inhibidor de MEK es Trametinib.
- [0240] En otras realizaciones, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D y el inhibidor de B-Raf mutada es Vemurafenib.
- 50 [0241] En algunas realizaciones, el tratamiento combinado incluye un compuesto de fórmula (III) o (IV), y un inhibidor de MEK o un inhibidor de B-Raf mutada. En otras realizaciones, el tratamiento combinado incluye un compuesto de fórmula (III) o (IV), y tanto un inhibidor de MEK como un inhibidor de B-Raf mutada.
- [0242] En algunas realizaciones, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con Trametinib.
- 55 [0243] En otras realizaciones, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con Trametinib y Vemurafenib.
- 60 [0244] En otras realizaciones, la presente invención se refiere a las combinaciones descritas anteriormente, para su uso en el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada.
- [0245] En otras realizaciones, la presente invención se refiere al uso de las combinaciones descritas anteriormente, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor que es resistente a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada, o para prevenir la resistencia adquirida a un inhibidor de MEK y/o un inhibidor de B-Raf mutada.
- 65

[0246] En una realización, el compuesto es un compuesto de fórmula A. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula B. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula C. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula D. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula E. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula F. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula Ga. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula H. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula J. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula IV-4. En una realización actualmente preferida, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D. Sin embargo, es evidente para un experto en la técnica que cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento puede usarse en las combinaciones de la presente invención.

Combinaciones de moduladores duales IRS/Stat3 y agentes quimioterapéuticos

[0247] En otros aspectos, ahora se ha encontrado inesperadamente que una combinación de un modulador dual de sustrato receptor de insulina (IRS) y transductor de señal y activador de la transcripción 3 (Stat3), como se describe en el presente documento, y un agente quimioterapéutico tal como Gemcitabina, 5-FU, Irinotecán, Oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos (por ejemplo, el tratamiento combinado FOLFIRI o FOLFOX), proporciona un efecto terapéutico que es al menos aditivo, y preferiblemente sinérgico en comparación con el efecto del tratamiento de cada agente solo. Además, la combinación se puede usar para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a cualquiera de estos agentes quimioterapéuticos o su combinación y/o para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a cualquiera de estos agentes quimioterapéuticos o su combinación, y/o para prevenir o retrasar el retraso de la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con cualquiera de estos agentes terapéuticos o su combinación.

[0248] FOLFIRI es un tratamiento combinado para el cáncer que contiene leucovorina (ácido folínico), 5-FU e irinotecán. FOLFOX es un tratamiento combinado para el cáncer que contiene leucovorina cálcica (ácido folínico), 5-FU y oxaliplatino.

[0249] Por lo tanto, de acuerdo con algunas realizaciones, la presente invención se refiere a una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV) y al menos un agente quimioterapéutico seleccionado de Gemcitabina, 5-FU, Irinotecán, Oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, en donde el compuesto y el (los) agente(s) quimioterapéutico(s) juntos proporcionan un efecto terapéutico sinérgico contra el cáncer.

[0250] En algunas realizaciones, la presente invención se refiere a un método de tratamiento de cáncer, que comprende la etapa de administrar al sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV) y al menos un agente quimioterapéutico seleccionado de Gemcitabina, 5-FU, Irinotecán, Oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, en donde el compuesto y el (los) agente(s) quimioterapéutico(s) juntos proporcionan un efecto antineoplásico terapéutico sinérgico.

[0251] En otras realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un tumor que ha desarrollado resistencia a al menos un agente quimioterapéutico, por ejemplo, gemcitabina, 5-FU, irinotecán, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con al menos uno de dichos agentes quimioterapéuticos en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

[0252] En otras realizaciones, la presente invención proporciona un método para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a al menos un agente quimioterapéutico, por ejemplo, gemcitabina, 5-FU, irinotecán, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, comprendiendo el método la etapa de contacto el tumor con al menos uno de dichos agentes quimioterapéuticos en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

[0253] En otras realizaciones, la presente invención proporciona un método para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con al menos un agente quimioterapéutico, por ejemplo, gemcitabina, 5-FU, irinotecán, oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto el tumor con al menos uno de dichos agentes quimioterapéuticos en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV).

[0254] En algunas realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene tumores con resistencia adquirida a dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s). En otras realizaciones, el tratamiento da como resultado atenuación o regresión en el crecimiento de los tumores resistentes. En otras realizaciones, el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo tratamiento con dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s), o es un candidato para recibir dicho tratamiento.

[0255] En otras realizaciones, la presente invención proporciona una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV) y al menos un agente quimioterapéutico, por ejemplo, Gemcitabina, 5-FU, Irinotecán, Oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, para usar en el tratamiento de un

tumor que es resistente a dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s), o para prevenir la resistencia adquirida a dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s), o para retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s).

5 [0256] En otras realizaciones, la presente invención se refiere al uso de una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula (III) o (IV) y al menos un agente quimioterapéutico, por ejemplo, gemcitabina, 5-FU, irinotecán, Oxaliplatino y cualquier combinación de los mismos, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tumor que es resistente a dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s), o para prevenir la resistencia adquirida a dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s), o para prevenir o retrasar el tumor recurrencia después del cese del tratamiento con dicho(s) agente(s) quimioterapéutico(s).

10 [0257] Es evidente para una persona experta en la técnica que pueden usarse otros agentes quimioterapéuticos relacionados con los ejemplos no limitantes anteriores en las combinaciones de la presente invención. Por ejemplo, la presente invención contempla el uso de otros compuestos de platino (por ejemplo, carboplatino y cisplatino), SN-38 (un metabolito de irinotecán) y otras fluoropirimidinas (análogos de 5-FU).

15 [0258] En una realización, el compuesto es un compuesto de fórmula A. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula B. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula C. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula D. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula E. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula F. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula Ga. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula H. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula I. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula J. En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula IV-4. En una realización actualmente preferida, el compuesto está representado por la estructura de fórmula D. Sin embargo, es evidente para un experto en la técnica que cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento puede usarse en las combinaciones de la presente invención.

Tratamiento del cáncer

30 [0259] El término "cáncer" como se usa en el presente documento se refiere a un trastorno en donde una población de células se ha vuelto, en diversos grados, insensible a los mecanismos de control que normalmente gobiernan la proliferación y diferenciación. El cáncer se refiere a varios tipos de neoplasmas y tumores malignos, incluidos los tumores primarios y las metástasis tumorales. Ejemplos no limitantes de cánceres que pueden tratarse mediante las combinaciones de la presente invención son los cánceres de cerebro, ovario, colon, próstata, riñón, vejiga, mama, pulmón, oral y de piel. Ejemplos específicos de cánceres son: carcinomas, sarcomas, mielomas, leucemias, linfomas y tumores de tipo mixto. Las categorías particulares de tumores incluyen trastornos linfoproliferativos, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, cáncer del sistema nervioso central, cáncer del sistema nervioso periférico, cáncer de piel, cáncer de riñón, así como metástasis de todo lo anterior. Los tipos particulares de tumores incluyen carcinoma hepatocelular, hepatoma, hepatoblastoma, rhabdomyosarcoma, carcinoma de esófago, carcinoma de tiroides, ganglioblastoma, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, tumor de Ewing, leiomyosarcoma, rhabdomyosarcoma, carcinoma ductal invasivo, adenocarcinoma papilar, melanoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma basocelular, adenocarcinoma (bien diferenciado, moderadamente diferenciado, poco diferenciado o indiferenciado), carcinoma de células renales, hipernefoma, adenocarcinoma hipernefroide, carcinoma de vías biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, tumor testicular, carcinoma de pulmón que incluye carcinoma de pulmón de células pequeñas, no pequeñas y grandes, carcinoma de vejiga, glioma, astrocito, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, retinoblastoma, neuroblastoma, carcinoma de colon, carcinoma rectal, neoplasias hematopoyéticas incluyendo todos los tipos de leucemia y linfoma, incluyendo: leucemia mielógena aguda, leucemia mielocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de mastocitos, mieloma múltiple, linfoma mieloide, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin y hepatocarcinoma. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

55 [0260] En algunas realizaciones representativas, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de cabeza y cuello (H&N), sarcoma, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cánceres hematopoyéticos, linfoma, leucemia, que incluye leucemia linfoblástica, carcinoma de pulmón, melanoma, glioblastoma, hepatocarcinoma, cáncer de próstata y cáncer de colon. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

60 [0261] El término "tratamiento del cáncer" en el contexto de la presente invención incluye al menos uno de los siguientes: una disminución en la tasa de crecimiento del cáncer (es decir, el cáncer todavía crece pero a una tasa más lenta); cese del crecimiento del crecimiento canceroso, es decir, estasis del crecimiento tumoral y, en casos preferidos, el tumor disminuye o se reduce de tamaño. El término también incluye la reducción en el número de metástasis, la reducción en el número de nuevas metástasis formadas, la desaceleración de la progresión del cáncer de una etapa a otra y una disminución en la angiogénesis inducida por el cáncer. En los casos más preferidos, el tumor se elimina por completo. Además, se incluye en este término el alargamiento del período de supervivencia del sujeto

65

sometido a tratamiento, el alargamiento del tiempo de progresión de las enfermedades, la regresión tumoral y similares. Debe entenderse que el término "tratar el cáncer" también se refiere a la inhibición de una proliferación celular maligna (cancerosa) que incluye la formación de tumores, tumores primarios, progresión tumoral o metástasis tumorales. El término "inhibición de la proliferación" en relación con las células cancerosas, puede referirse además a una disminución en al menos uno de los siguientes: número de células (debido a la muerte celular que puede ser necrótica, apoptótica o cualquier otro tipo de muerte celular o combinaciones del mismo) en comparación con el control; disminución en las tasas de crecimiento de las células, es decir, el número total de células puede aumentar pero a un nivel más bajo o a una tasa más baja que el aumento en el control; disminución de la invasividad de las células (como se determina, por ejemplo, mediante un ensayo de agar blando) en comparación con el control, incluso si su número total no ha cambiado; progresión de un tipo celular menos diferenciado a un tipo celular más diferenciado; una desaceleración en la transformación neoplásica; o, alternativamente, la desaceleración de la progresión de las células cancerosas de una etapa a la siguiente.

[0262] Tal como se utiliza aquí, el término "administrar" se refiere a poner en contacto con la combinación de la presente invención. La administración puede llevarse a cabo en cultivos de células o tejidos, o en organismos vivos, por ejemplo humanos. En una realización, la presente invención abarca administrar las combinaciones de la presente invención a un sujeto humano.

[0263] Un tratamiento "terapéutico" es un tratamiento administrado a un sujeto que exhibe signos de patología con el propósito de disminuir o eliminar esos signos. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" es la cantidad de compuesto o una composición que es suficiente para proporcionar un efecto beneficioso al sujeto al que se administra el compuesto o composición.

[0264] El término "después del cese del tratamiento", como se usa en el presente documento, significa que se suspende el tratamiento con el fármaco de elección. Por ejemplo, de acuerdo con ciertas realizaciones de la presente invención, el modulador dual IRS/Stat3 (por ejemplo, el compuesto de fórmula (III) o (IV)) se administra junto (secuencialmente o simultáneamente) con cualquiera de los tratamientos de combinación descritos en este documento, para una duración de tiempo deseada. Luego, se detiene el tratamiento (con todos los compuestos) y se monitorean los tumores durante un período de tiempo deseado. Como se contempla en el presente documento, los moduladores duales IRS/Stat3 de la presente invención pueden prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con cualquiera de los fármacos de combinación descritos en el presente documento, en mayor medida que cualquiera de estos fármacos administrados solos.

[0265] El término "tratar un tumor que ha desarrollado resistencia" a un determinado fármaco contra el cáncer, o "prevenir la resistencia adquirida de un tumor" a un determinado fármaco contra el cáncer, significa uno o más de los siguientes: (i) los tumores adquieren o desarrollan resistencia como resultado del tratamiento con ese medicamento contra el cáncer; (ii) que los tumores adquieren o desarrollan resistencia como resultado del tratamiento con otros medicamentos contra el cáncer; o (iii) los tumores tienen una resistencia primaria a ese medicamento contra el cáncer.

[0266] La terapia de combinación puede proporcionar una ventaja terapéutica en vista de la toxicidad diferencial asociada con los dos tratamientos individuales. Por ejemplo, el tratamiento con un compuesto puede conducir a una toxicidad particular que no se ve con el otro compuesto, y *viceversa*. Como tal, esta toxicidad diferencial puede permitir que cada tratamiento se administre a una dosis en donde las toxicidades no existan o sean mínimas, de modo que la terapia combinada proporcione una dosis terapéutica evitando las toxicidades de cada uno de los componentes de los agentes combinados. Además, cuando los efectos terapéuticos logrados como resultado del tratamiento combinado son mejorados o sinérgicos, es decir, significativamente mejores que los efectos terapéuticos aditivos, las dosis de cada uno de los agentes pueden reducirse aún más, reduciendo así las toxicidades asociadas a un nivel aún mayor.

[0267] Los términos "sinérgico", "cooperativo" y "super-aditivo" y sus diversas variaciones gramaticales se usan indistintamente en este documento. Una interacción entre un modulador dual IRS/Stat3 y otro agente anticancerígeno (por ejemplo, inhibidor de mTOR, inhibidor de EGFR, anticuerpo de EGFR y/o agente de inmunoterapia) se considera sinérgico, cooperativo o superaditivo cuando el efecto observado (por ejemplo, citotoxicidad) en presencia de las drogas juntas es mayor que la suma de los efectos individuales de cada droga administrada por separado. En una realización, el efecto combinado observado de los fármacos es significativamente mayor que la suma de los efectos individuales. El término significativo significa que el $p < 0,05$ observado. Una manera no limitante de calcular la efectividad del tratamiento combinado comprende el uso del modelo de aditividad Bliss (Cardone et al. Science (1998), 282:1318-1321) utilizando la siguiente fórmula: $E_{bliss} = EA + EB - EA \times EB$, donde EA y EB son las inhibiciones fraccionadas obtenidas por el fármaco A solo y el fármaco B solo a concentraciones específicas. Cuando la inhibición fraccionada medida experimentalmente es igual a E_{bliss} , la combinación proporciona un efecto terapéutico aditivo. Cuando la inhibición fraccionada medida experimentalmente es mayor que E_{bliss} , la combinación proporciona un efecto terapéutico sinérgico.

Composiciones farmacéuticas

[0268] Aunque los componentes de las combinaciones de la presente invención pueden administrarse solos, se contempla que los componentes se administren en composiciones farmacéuticas que contienen además al menos un

vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Cada uno de los componentes puede administrarse en una composición farmacéutica separada, o la combinación puede administrarse en una composición farmacéutica.

5 [0269] Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular para la administración por una variedad de rutas que incluyen oral, rectal, transdérmica, parenteral (subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intraarterial, transdérmica e intramuscular), tópica, intranasal o mediante un supositorio. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. Dichas composiciones se preparan de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y comprenden como ingrediente activo al menos un compuesto de la presente invención como se describió anteriormente, y un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. El término
10 "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o que figuran en la farmacopea de EE.UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales y, más particularmente, en humanos.

15 [0270] Durante la preparación de las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención, el ingrediente activo generalmente se mezcla con un vehículo o excipiente, que puede ser un material sólido, semisólido o líquido. Las composiciones pueden estar en forma de tabletas, píldoras, cápsulas, gránulos, polvos, pastillas, bolsitas, sellos, elixires, suspensiones, dispersiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), pomadas que contienen, por ejemplo, hasta 10% en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles. Cada posibilidad
20 representa una realización separada de la presente invención.

25 [0271] Los portadores pueden ser cualquiera de los utilizados convencionalmente y están limitados solamente por consideraciones químico-físicas, tales como solubilidad y falta de reactividad con el compuesto de la invención, y por la vía de administración. La elección del vehículo se determinará por el método particular utilizado para administrar la composición farmacéutica. Algunos ejemplos de vehículos adecuados incluyen lactosa, glucosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma de acacia, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua y metilcelulosa. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes, tensioactivos, agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes tales como metilo y propilhidroxibenzoatos; agentes edulcorantes; agentes aromatizantes, colorantes, agentes tamponantes (p. ej., acetatos, citratos o fosfatos), agentes desintegrantes, agentes humectantes, agentes antibacterianos, antioxidantes (p. ej., ácido ascórbico o bisulfito de sodio), agentes quelantes (p. ej., ácido etilendiaminotetraacético), y agentes para el ajuste de la tonicidad como el cloruro de sodio. Otros
30 vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, como agua y aceites, incluidos los de petróleo, origen animal, vegetal o sintético, como el aceite de maní, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol. u otros solventes sintéticos. El agua es un vehículo preferido cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol también pueden emplearse como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

35 [0272] Para preparar composiciones sólidas tales como tabletas, el ingrediente o ingredientes activos principales se mezclan con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, se entiende que el ingrediente activo se dispersa uniformemente por toda la
40 composición, de modo que la composición se puede subdividir fácilmente en formas de dosificación unitarias igualmente efectivas, tales como tabletas, píldoras y cápsulas. Esta preformulación sólida se subdivide en formas de dosificación unitarias del tipo descrito anteriormente que contiene, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 2000 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 250 mg, etc. del ingrediente o
50 ingredientes activos de la presente invención.

55 [0273] Se puede usar cualquier método para preparar las composiciones farmacéuticas. Las formas de dosificación sólidas se pueden preparar por granulación en húmedo, granulación en seco, compresión directa y similares. Las formas de dosificación sólidas de la presente invención pueden recubrirse o combinarse de otro modo para proporcionar una forma de dosificación que proporcione la ventaja de una acción prolongada. Por ejemplo, la tableta o píldora puede comprender una dosificación interna y un componente de dosificación externa, esta última en forma de una envoltura sobre la primera. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica, que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase su liberación. Se puede usar una variedad de materiales para tales capas o recubrimientos entéricos, tales
60 materiales que incluyen varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

65 [0274] Las formas líquidas en las que se pueden incorporar las composiciones de la presente invención, para administración oral o por inyección, incluyen soluciones acuosas, jarabes con sabor adecuado, suspensiones acuosas o oleosas, y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite

sésamo, aceite de coco o aceite de maní, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

5 [0275] Las composiciones para inhalación o aislamiento incluyen soluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se describe anteriormente. En una realización, las composiciones se administran por vía respiratoria oral o nasal para un efecto local o sistémico. Las composiciones en disolventes farmacéuticamente aceptables pueden nebulizarse mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas se pueden respirar directamente desde el dispositivo nebulizador o el dispositivo nebulizador se puede conectar a una tienda de máscaras faciales o a una máquina de respiración de presión positiva intermitente. Las composiciones de solución, suspensión o polvo pueden administrarse, por vía oral o nasal, desde dispositivos que administran la formulación de manera apropiada.

15 [0276] Otra formulación adecuada para las composiciones y métodos de la presente invención emplea dispositivos de administración transdérmica ("parches"). Tales parches transdérmicos pueden usarse para proporcionar una infusión continua o discontinua de los compuestos de la presente invención en cantidades controladas. La construcción y uso de parches transdérmicos para el suministro de agentes farmacéuticos es bien conocida en la técnica.

20 [0277] En otra realización más, la composición se prepara para administración tópica, por ejemplo, como una pomada, un gel, una gota o una crema. Para la administración tópica en superficies corporales usando, por ejemplo, cremas, geles, gotas, pomadas y similares, los compuestos de la presente invención se pueden preparar y aplicar en un diluyente fisiológicamente aceptable con o sin un vehículo farmacéutico. La presente invención se puede usar por vía tópica o transdérmica para tratar el cáncer, por ejemplo, el melanoma. Los adyuvantes para formas tópicas o de base de gel pueden incluir, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilatos, polímeros de bloque de polioxietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y alcoholes de cera para madera. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

25 [0278] Las formulaciones alternativas incluyen aerosoles nasales, formulaciones liposomales, formulaciones de liberación lenta, bombas que administran los fármacos en el cuerpo (incluyendo bombas mecánicas u osmóticas) formulaciones de liberación controlada y similares, como se conoce en la técnica.

30 [0279] Las composiciones se formulan preferiblemente en una forma de dosificación unitaria. El término "formas de dosificación unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, cada unidad que contiene una cantidad predeterminada de material(es) activo(s) calculado(s) para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

35 [0280] Al preparar una formulación, puede ser necesario moler el ingrediente activo para proporcionar el tamaño de partícula apropiado antes de combinarlo con los otros ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, normalmente se muele a un tamaño de partícula de menos de 200 mallas. Si el ingrediente activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula se ajusta normalmente mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, aproximadamente 40 mallas.

40 [0281] Puede ser deseable administrar la composición farmacéutica de la invención localmente en el área que necesita tratamiento; Esto puede lograrse, por ejemplo, y no a modo de limitación, infusión local durante la cirugía, infusión al hígado a través de la alimentación de vasos sanguíneos con o sin cirugía, aplicación tópica, por ejemplo, junto con un apósito para heridas después de la cirugía, por inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio, o por medio de un implante, siendo el implante un material poroso, no poroso o gelatinoso. Según algunas realizaciones, la administración puede ser por inyección directa, por ejemplo, a través de una jeringa, en el sitio de un tumor o tejido neoplásico o preneoplásico.

45 [0282] Los compuestos también se pueden administrar por cualquier vía conveniente, por ejemplo por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de revestimientos epiteliales (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.), y se pueden administrar junto con otros agentes terapéuticamente activos. La administración puede ser localizada o puede ser sistémica. Además, puede ser deseable introducir las composiciones farmacéuticas de la invención en el sistema nervioso central por cualquier vía adecuada, incluyendo inyección intraventricular e intratecal; La inyección intraventricular puede facilitarse mediante un catéter intraventricular, por ejemplo, unido a un depósito. La administración pulmonar también se puede emplear, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y la formulación con un agente aerosolizante.

50 [0283] Un compuesto de la presente invención puede administrarse en una liberación inmediata o en un sistema de liberación controlada. En una realización, se puede usar una bomba de infusión para administrar un compuesto de la invención, tal como uno que se usa para administrar quimioterapia a órganos o tumores específicos (véase Buchwald et al., 1980, Surgery 88: 507; Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321: 574). En una realización, un compuesto de la invención se administra en combinación con un implante polimérico biodegradable, biocompatible, que libera el compuesto durante un período controlado de tiempo en un sitio seleccionado. Los ejemplos de materiales poliméricos incluyen, pero no se limitan a, polianhídridos, poliorioésteres, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, acetato de polietileno

y vinilo, copolímeros y mezclas de los mismos. En otra realización más, se puede colocar un sistema de liberación controlada cerca del objetivo terapéutico, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica.

[0284] Además, en ocasiones, las composiciones farmacéuticas pueden formularse para administración parenteral (inyección subcutánea, intravenosa, intraarterial, transdérmica, intraperitoneal o intramuscular) y pueden incluir soluciones de inyección estériles isotónicas acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor deseado, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que incluyen agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizadores y conservantes. Aceites tales como aceites de petróleo, animales, vegetales o sintéticos y jabones tales como sales de metales alcalinos grasos, amonio y trietanolamina, y detergentes adecuados también pueden usarse para administración parenteral. Las formulaciones anteriores también se pueden usar para inyección intratumoral directa. Además, para minimizar o eliminar la irritación en el sitio de inyección, las composiciones pueden contener uno o más tensioactivos no iónicos. Los tensioactivos adecuados incluyen ésteres de ácido graso de polietilén sorbitán, tales como monooleato de sorbitán y los aductos de alto peso molecular de óxido de etileno con una base hidrófoba, formados por la condensación de óxido de propileno con propilenglicol.

[0285] Las formulaciones parenterales pueden presentarse en envases sellados de dosis unitarias o multidosis, tales como ampollas y viales, y pueden almacenarse en una condición liofilizada que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua, para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles del tipo descrito y conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0286] Alternativamente, las combinaciones de la presente invención pueden usarse en hemodiálisis como leucoforesis y otros métodos relacionados, por ejemplo, se extrae sangre del paciente mediante una variedad de métodos tales como diálisis a través de una columna/membrana de fibra hueca, cartucho, etc., se trata con el modulador dual IRS/Stat3 y/o agente anticancerígeno adicional *ex-vivo*, y se devuelve al paciente después del tratamiento. Tales métodos de tratamiento son bien conocidos y se describen en la técnica. Ver, por ejemplo, Kolho et al. (J. Med. Virol. 1993, 40 (4): 318 - 21); Ting y col. (Transplantation, 1978, 25 (1): 31-3); los contenidos de los cuales se incorporan por referencia en su totalidad.

Dosis y programas de dosificación

[0287] El tratamiento con el modulador doble IRS/Stat3 y el otro agente anti-cáncer (es decir, inhibidor EGFR/anticuerpo EGFR/inhibidor mTOR/agente de inmunoterapéutico/inhibidor de MEK/inhibidor de B-Raf mutada/agente quimioterapéutico o combinación de los mismos) puede tener lugar secuencialmente en cualquier orden, simultáneamente o una combinación de los mismos. Por ejemplo, la administración de un modulador dual IRS/Stat3 puede tener lugar antes, después o al mismo tiempo que la administración del otro agente anticancerígeno o una combinación de los mismos. Por ejemplo, se puede decidir un período de tratamiento total para el modulador dual IRS/Stat3. El otro agente anticancerígeno se puede administrar antes del inicio del tratamiento con el modulador dual IRS/Stat3 o después del tratamiento con el modulador dual IRS/Stat3. Además, el otro agente anticancerígeno se puede administrar durante el período de administración del modulador dual IRS/Stat3, pero no es necesario que ocurra durante todo el período de tratamiento. En otra realización, el régimen de tratamiento incluye pretratamiento con un agente, ya sea el modulador dual IRS/Stat3 o el inhibidor EGFR/anticuerpo EGFR/inhibidor mTOR/agente de inmunoterapia/inhibidor MEK/inhibidor de B-Raf mutada/agente quimioterapéutico o combinación de los mismos seguido de la adición del otro agente o agentes. También se contemplan secuencias alternativas de administración. La administración alterna incluye la administración de un modulador dual IRS/Stat3 y otro agente anticancerígeno en secuencias alternas, por ejemplo, modulador dual IRS/Stat3, seguido por el otro agente anticancerígeno, seguido por el modulador dual IRS/Stat3, etc.

[0288] La cantidad de un compuesto que será eficaz en el tratamiento de un trastorno o afección particular, incluido el cáncer, dependerá de la naturaleza del trastorno o afección, y puede determinarse mediante técnicas clínicas estándar. Además, los ensayos *in vitro* pueden emplearse opcionalmente para ayudar a identificar rangos de dosificación óptimos. La dosis precisa que se empleará en la formulación también dependerá de la vía de administración y la progresión de la enfermedad o trastorno, y debe decidirse de acuerdo con el criterio del profesional y las circunstancias de cada paciente. Una dosis preferida estará dentro del rango de 0,01-1000 mg/kg de peso corporal, 0,1mg/kg a 100 mg/kg, 1 mg/kg a 100mg/kg, 10 mg/kg a 75 mg/kg, 0,1-1 mg/kg, etc. Las cantidades ejemplares (no limitantes) del inhibidor EGFR de modulador dual IRS/Stat3/anticuerpo EGFR/inhibidor mTOR/agente de inmunoterapia/inhibidor MEK/inhibidor de B-Raf mutada/agente quimioterapéutico incluyen 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg, 60 mg/kg, 75 mg/kg y 100 mg/kg. Alternativamente, la cantidad administrada se puede medir y expresar como molaridad del compuesto administrado. A modo de ilustración y no de limitación, se puede administrar un modulador dual IRS/Stat3 (por ejemplo, un compuesto de cualquiera de las fórmulas I, II, III, IV) en un rango de 0,1-10 mM, por ejemplo, 0,1, 0,25, 0,5, 1 y 2 mM. Alternativamente, la cantidad administrada se puede medir y expresar como mg/ml, µg/ml o ng/ml. A modo de ilustración y sin limitación, el inhibidor de EGFR/anticuerpo EGFR/inhibidor de mTOR/agente de inmunoterapia/inhibidor de MEK/inhibidor de B-Raf mutada/agente quimioterapéutico puede administrarse en una cantidad de 1 ng/ml a 100 mg/ml, por ejemplo 1-1000 ng/ml, 1-100 ng/ml, 1-1000 µg/ml, 1-100 µg/ml, 1-1000 mg/ml, 1-100 mg/ml, etc. Dosis efectivas puede extrapolarse a

partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de bioensayos o sistemas de prueba en modelos animales o *in vitro*. Cuando se observa un efecto sinérgico, la dosis global de cada uno de los componentes puede ser más baja, por lo tanto, los efectos secundarios experimentados por el sujeto pueden ser significativamente más bajos, sin embargo, se logra un efecto anticancerígeno suficiente.

[0289] En una realización, la terapia de combinación reduce la cantidad de cada uno de sus componentes en un factor de 2, es decir, cada componente se administra a la mitad de la dosis en comparación con la terapia de agente único, y aún logra el mismo efecto terapéutico o similar. En otra realización, la terapia de combinación reduce la cantidad de cada uno de su componente en un factor de 5, 10, 20, 50 o 100. Como se ha demostrado en el presente documento, el CI_{50} de los agentes quimioterapéuticos como agentes anti-proliferativos en varias células cancerosas se reducen en comparación con el CI_{50} del agente quimioterapéutico, cuando se administra solo.

[0290] El programa de administración dependerá de varios factores tales como el cáncer que se está tratando, la gravedad y la progresión, la población de pacientes, la edad, el peso, etc. Por ejemplo, las composiciones de la invención se pueden tomar una vez al día, dos veces al día, tres veces diariamente, una vez a la semana o una vez al mes. Además, la administración puede ser continua, es decir, todos los días o de forma intermitente. Los términos "intermitente" o "intermitente" como se usan en el presente documento significa detenerse y comenzar a intervalos regulares o irregulares. Por ejemplo, la administración intermitente puede ser de uno a seis días por semana o puede significar administración en ciclos (por ejemplo, administración diaria durante dos a ocho semanas consecutivas, luego un período de descanso sin administración hasta por una semana) o puede significar administración en días alternos. Los diferentes componentes de la combinación pueden, independientemente del otro, seguir diferentes horarios de dosificación.

[0291] Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de más plenamente ilustrar ciertas realizaciones de la invención. Sin embargo, de ninguna manera deben interpretarse como limitantes del amplio alcance de la invención. Un experto en la materia puede idear fácilmente muchas variaciones y modificaciones de los principios descritos aquí sin apartarse del alcance de la invención.

SECCIÓN DE DETALLES EXPERIMENTAL

Ejemplo 1: Prevención de la resistencia adquirida a Erlotinib con Compuesto D

[0292] Sistema experimental: Xenoinjerto derivado de paciente (PDX) de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN) tumor de biopsia subcutánea implantado en ratones DNOSCID.

I. Animales y biopsia

[0293]

- Biopsia: biopsia de tumor SCCHN primario humano fresco.
Tipo de tumor: carcinoma mucoepidermoide de glándulas salivales. El análisis genómico reveló EGFR amplificado y mutado (activado).

- Implantación de injertos de biopsia tumoral (P0): se implantaron por vía subcutánea (SC) injertos de biopsia de tumor SCCHN primario humano fresco en 5 NOD.CB17-*Prkdc^{scid}/J* hembra (ratones NodScid), 5-6 semanas de edad (Harlan, IL), después de 14 días de aclimatación.

- Implantación de injertos de biopsia tumoral (P1) en ratones NodScid para estudio de eficacia: 3,5 semanas después de la implantación de la biopsia (P0), los tumores alcanzaron un tamaño promedio de aproximadamente 1.200 mm³, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical y los tumores fueron extirpados. Se midieron los tumores, se cortaron en pequeños trozos de 2-4 mm y se transfirieron a un tubo suave de MACS que contenía solución salina estéril. El volumen del tumor se ajustó con solución salina para obtener 1,5 mm³ el volumen del tumor/100 µl de solución salina. La muestra fue disociada usando un disociador OctoMACS suave. El tejido tumoral disociado se recogió con una jeringa de 18G y se inyectó directamente debajo de la piel. Se inyectaron 35 ratones NodScid hembra de 4-5 semanas de edad (Harlan, IL) cada uno por vía subcutánea en el área de la nuca con 100 µl de la solución celular obtenida (aproximadamente 1,5 mm³ de volumen tumoral P1 en 100 µl de solución salina por ratón). Los animales fueron observados y monitoreados por cualquier molestia e inmovilidad día a día, se verificó la incapacidad para moverse o alimentarse adecuadamente, estar encorvados e inactivos, y ulceraciones, definidas como exposición de centros necróticos.

- El inicio del crecimiento tumoral (masa tumoral palpable) se detectó diez días después de la inyección celular. Después de 8 días, 32 de los 35 ratones inyectados desarrollaron tumores con un tamaño promedio de aproximadamente 80 mm³. Los ratones se dividieron aleatoriamente en 4 grupos de tratamiento, incluidos 8 animales/grupo.

II. Tratamientos y procedimientos

[0294] Cuando el tamaño del tumor era ~80 mm³ (día0) se iniciaron los siguientes tratamientos:

1. Control (vehículo): 100 µl de agua PO (5 veces/semana, diariamente)
2. Compuesto D 70 mg/kg en 20% de 2-hidroxipropilo-β-ciclodextrina (HPbCD), IV (3 veces/semana, qod)
3. Erlotinib 100 mg/kg PO (5 veces/semana, diariamente).
4. Erlotinib 100 mg/kg PO (5 veces/semana) + Compuesto D 70 mg/kg IV (3 veces/semana). Se administró erlotinib ~4 h después del Compuesto D, cuando se administró en los mismos días.

[0295] Todos los tratamientos para cada uno de los grupos de tratamiento 1-4 se iniciaron simultáneamente.

[0296] La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron 4 veces a la semana y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El peso y el comportamiento de los ratones se examinaron al menos una vez a la semana. Después de dos semanas de tratamiento, se sacrificaron los ratones y se extirparon los tumores para análisis bioquímico y genómico 14 horas después de la última administración de fármaco/inhibidor. Tres ratones en el grupo de tratamiento combinado no se sacrificaron al final del tratamiento y se mantuvieron sin tratamiento adicional.

Resultados

[0297] Como se muestra en la Figura 1, el tratamiento con Erlotinib, un inhibidor de EGFR TK, inicialmente condujo a una regresión tumoral significativa en todos los ratones tratados (Figura 1, cuadrados abiertos). Sin embargo, después de una semana de tratamiento, todos los tumores desarrollaron resistencia a Erlotinib y progresaron agresivamente. El tratamiento combinado con Erlotinib y el Compuesto D condujo a una regresión tumoral significativa en todos los ratones tratados y ninguno de los tumores volvió a crecer durante el período de tratamiento combinado (Figura 1, círculos abiertos).

[0298] Dos ratones que lograron una respuesta completa se mantuvieron vivos sin tratamiento adicional y permanecieron libres de enfermedad después de 3 meses sin tratamiento adicional.

[0299] Aunque el tumor inicial no ha respondido al Compuesto D solo, la resistencia adquirida a Erlotinib fue completamente abolida por el Compuesto D. La evidencia de la literatura sugiere que el tratamiento con Erlotinib induce una regulación positiva del IRS que conduce a la resistencia por la activación de IGF1R/Vía de supervivencia de IRS a AKT. Otros informes afirman que Erlotinib induce la fosforilación de Stat3 en el cáncer H&N, y la inhibición de Stat3 & EGFR tiene un efecto inhibitorio sinérgico en los tumores H&N. Sin desear estar sujeto a ninguna teoría o mecanismo de acción en particular, el Compuesto D y otros compuestos de fórmulas (I-IV) descritos aquí son inhibidores duales de IRS 1/2 y Stat3 y, por lo tanto, deben antagonizar estos mecanismos inducidos por Erlotinib y prevenir la resistencia.

Ejemplo 2: Regresión de tumores resistentes a Erlotinib con tratamiento combinado de Erlotinib y Compuesto D

[0300] Sistema experimental: Xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN) tumor de biopsia subcutánea implantado en ratones NodScid.

I. Animales y biopsia

[0301]

- Implantación del injerto de biopsia tumoral SCCHN (P8) en ratones NodScid para estudio de eficacia: cinco meses después de la implantación del injerto de biopsia tumoral SCCHN (P1) descrito anteriormente, se inyectaron células tumorales (P8) en ratones NodScid de auto-reproducción, 9,5 semanas de edad, utilizando el mismo procedimiento descrito para la implantación de P1. La biopsia original es la misma que la descrita anteriormente y la P indica pasajes (número de implantación en ratones).
- El inicio del crecimiento tumoral (masa tumoral palpable) se detectó siete días después de la inyección celular. 12 días después, los ratones que desarrollaron tumores tenían un tamaño de alrededor de 70 mm³. Los ratones se dividieron aleatoriamente en 4 grupos de tratamiento, incluidos 4 animales en los grupos tratados con Vehículo, Compuesto D o Compuesto D + Erlotinib, y el resto se trató con Erlotinib. Tratamientos iniciados simultáneamente (día 0).

II. Tratamientos y procedimientos

[0302] Los grupos de tratamiento incluidos:

1. Vehículo de control: 20% de 2-hidroxipropilo-β-ciclodextrina (HPbCD) 50 µl/inyección, IV (3 veces/semana, cada dos días).
2. Compuesto D 70 mg/kg en HPbCD, IV (3 veces/semana, qod).
3. Erlotinib 100 mg/kg en HPbCD, PO (5 veces/semana).

4. Erlotinib 100 mg/kg PO (5 veces/semana) + Compuesto D 70 mg/kg IV (3 veces/semana). Se administró erlotinib ~4 h después del Compuesto D, cuando se administró en los mismos días.

Todos estos tratamientos se iniciaron simultáneamente.

[0303] El tratamiento con Erlotinib (Grupo 3) condujo a una regresión tumoral dramática (Figura 2, cuadrados abiertos). Durante el tratamiento, los tumores desarrollaron resistencia a Erlotinib después de 1 semana de tratamiento y progresaron agresivamente. Los ratones tratados con Erlotinib, que desarrollaron tumores alrededor de 130 mm³ en el día 10 (n = 7), se dividieron en dos grupos:

5. El primero (n = 3) continuó recibiendo Erlotinib (100 mg/kg PO, 5 veces/semana), y
6. El segundo grupo (n = 4) comenzó un tratamiento combinado con Erlotinib (100 mg/kg PO, 5 veces/semana) + Compuesto D (70 mg/kg IV, 3 veces/semana, qod) el día 10 de tratamiento. Se administró erlotinib ~4 h después del Compuesto D, cuando se administró en los mismos días.

[0304] La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron 4 veces a la semana y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El peso y el comportamiento de los ratones se examinaron al menos una vez a la semana. Se sacrificaron los ratones y se extrajeron los tumores para análisis bioquímico y genómico.

Resultados

[0305] Como se muestra en la Figura 2, el tratamiento con Erlotinib (cuadrado abierto) condujo a la regresión del tumor en el 78% de los ratones tratados (14 de 18 ratones respondieron). Sin embargo, durante el tratamiento, los tumores desarrollaron resistencia a Erlotinib después de 1 semana y progresaron agresivamente. Los ratones tratados con erlotinib cuyos tumores tenían ~130 mm³ en el día 10 (n = 7) se dividieron en dos grupos: el primero (n = 3) continuó recibiendo Erlotinib (cuadrados abiertos) y el segundo grupo (n = 4) comenzó un tratamiento combinado con Erlotinib + Compuesto D (círculos negros) en el día 10 de tratamiento. Se observó una regresión dramática del tumor después del inicio del tratamiento combinado (Figura 2, tratamiento tardío, círculos negros) mientras que los tumores de ratones tratados solo con Erlotinib, se desarrollaron agresivamente (Figura 2, cuadrados abiertos). El tratamiento combinado con Erlotinib + Compuesto D iniciado el día 0 (Figura 2, tratamiento temprano, círculos abiertos) condujo a una regresión tumoral significativa en todos los ratones tratados y ningún tumor volvió a crecer, de acuerdo con los resultados del Ejemplo 1.

Conclusión

[0306] En conclusión, el tratamiento combinado del Compuesto D + Erlotinib es altamente efectivo y conduce a una regresión dramática de los tumores después de que la resistencia a Erlotinib ya ha adquirido. Además, en el tratamiento temprano de tumores establecidos, el Compuesto D previene la resistencia adquirida a Erlotinib.

Ejemplo 3: El Compuesto D previene resistencia adquirida a Erlotinib incluso cuando el tamaño inicial del tumor es muy alto (700 mm³)

[0307] Sistema experimental: Xenoinjerto derivado de los pacientes (PDX) de carcinoma de células escamosas de biopsia tumoral SCCHN subcutánea implantado en ratones NRG.

I. Animales y biopsia

[0308]

- Implantación del injerto de biopsia tumoral SCCHN (P11) en ratones NRG para estudio de eficacia: ocho meses después de la implantación del injerto de biopsia tumoral SCCHN (P1) descrito anteriormente, se inyectaron células tumorales (P11) en 20 machos ratones NOD. Ratones CgRag1tm1Mom Il2rgtm1Wj1/SzJ (Nombre común: NRG), de auto-reproducción, utilizando el mismo procedimiento descrito para la implantación de P1. La biopsia original es la misma que la descrita anteriormente y la P indica pasajes (número de implantación en ratones).
- El inicio del crecimiento tumoral (masa tumoral palpable) se detectó seis días después de la inyección celular. 13 días después, 19 de cada 20 ratones inyectados desarrollaron tumores con un tamaño promedio de 700-720 mm³ (día 0). Los ratones se dividieron aleatoriamente en 4 grupos de tratamiento, incluidos 4 animales en el grupo tratado con Vehículo, y 5 ratones/grupo en los grupos tratados con Erlotinib, Compuesto D o Compuesto D + Erlotinib. Todos los tratamientos se iniciaron simultáneamente en el día 0.

II. Tratamientos y procedimientos

Los grupos de tratamiento incluyeron:

[0309]

1. Control del vehículo: 20% de HPbCD 50 µl/inyección, IV (3 veces/semana, qod), 4 ratones.
2. Compuesto D 70 mg/kg en HPbCD, IV (3 veces/semana, qod), 5 ratones.
3. Erlotinib 100 mg/kg en HPbCD, PO (5 veces/semana), 5 ratones.
4. Erlotinib 100 mg/kg PO (5 veces/semana) + Compuesto D 70 mg/kg IV (3 veces/semana), 5 ratones. Se administró erlotinib ~4 h después del Compuesto D, cuando se administró en los mismos días.

[0310] La longitud (1) y la anchura (w) de los tumores se midieron 4 veces a la semana y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = 1w^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El peso y el comportamiento de los ratones se examinaron rutinariamente. Se sacrificaron los ratones y se extirparon los tumores para análisis bioquímico y genómico.

Resultados

[0311] Como se muestra en la Figura 3, el tratamiento con Erlotinib condujo a una respuesta significativa de los tumores, su crecimiento se detuvo y retrocedieron. Sin embargo, durante el tratamiento, los tumores desarrollaron resistencia a Erlotinib una semana después del inicio del tratamiento y progresaron agresivamente (Figura 3, cuadrados abiertos). El tratamiento combinado con Erlotinib + Compuesto D iniciado el día 0 (Figura 3, círculos abiertos) mostró la misma respuesta que Erlotinib en la primera semana, pero el tratamiento combinado con Compuesto D evitó la resistencia adquirida a Erlotinib, evitó el nuevo crecimiento de tumores y la regresión tumoral inducida, consistente con los resultados del Ejemplo 1.

Conclusión

[0312] En conclusión, el tratamiento combinado del Compuesto D + Erlotinib es altamente efectivo y previene la resistencia adquirida a Erlotinib, incluso si el tamaño inicial de los tumores era muy alto (700 mm³) cuando se iniciaron los tratamientos.

Ejemplo 4: El tratamiento combinado del Compuesto D y Afinitor bloquea eficazmente el crecimiento de xenoinjertos derivados de pacientes con sarcoma en ratones

[0313] Sistema experimental: xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de biopsia de AdenoSarcoma uterino subcutáneo implantado en ratones NodScid.

I. Animales y biopsia**[0314]**

- Biopsia: AdenoSarcoma uterino primario humano congelado (ID de muestra: OT_001)
- Implantación de injertos de biopsia tumoral (P0): Los injertos de biopsia AdenoSarcoma uterino primario humano congelado se implantaron por vía subcutánea (SC) (P0) en NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J hembra (ratones NodScid, Harlan IL). Tres meses después, se extirparon los tumores, se cortaron en trozos pequeños y se implantaron en 38 ratones NodScid (P1) para un estudio de eficacia.
- Ocho días después de la implantación de la biopsia (P1) se detectó el inicio del tumor en 37 ratones.
- Una semana después (día 0), los tumores en 33 ratones alcanzaron un tamaño promedio de 130 mm³ y los ratones se dividieron aleatoriamente en 4 grupos de tratamiento.

II. Tratamientos y procedimientos

[0315] Los grupos de tratamiento incluyeron:

1. Control: 20% de HPbCD 50ul IP, qod (6 ratones).
2. Compuesto D 70 mg/kg en 20% de HPbCD, IV, qod (6 ratones).
3. Afinitor 5 mg/kg PO, qod (15 ratones).
4. Afinitor 5 mg/kg PO (qod) + Compuesto D 70 mg/kg IV (qod), 6 ratones. Afinitor se administró ~4 h después del Compuesto D.

[0316] Todos los tratamientos se iniciaron simultáneamente en el día 0.

[0317] La longitud (1) y la anchura (w) de los tumores se midieron cada dos días y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = 1w^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). Cuatro días después del inicio del tratamiento, los tumores del grupo control y el grupo Compuesto D ya alcanzaron el punto final y los ratones fueron sacrificados.

Resultados

[0318] Como se muestra en la Figura 4, el tratamiento con Afinitor (cuadrados abiertos), un inhibidor de mTOR/S6K, condujo a la inhibición del crecimiento de los tumores: mientras que el tamaño promedio del tumor en el grupo de control aumentó 16 veces el tamaño promedio del tumor en el grupo Afinitor aumentó 5,5 veces.

[0319] Sorprendentemente, aunque el Compuesto D solo (triángulos abiertos) no tuvo un efecto significativo sobre el crecimiento tumoral, el tratamiento combinado de Afinitor + Compuesto D (círculos abiertos) condujo a la regresión del tumor. El tamaño tumoral promedio del tratamiento combinado retrocedió de 130 mm³ a 70 mm³ en cuatro días y después de solo dos tratamientos.

[0320] En términos de ratones respondedores frente a ratones no respondedores, mientras que no se detectó respuesta al Compuesto D solo, y solo la mitad de los ratones en el grupo tratado con Afinitor respondió (grupo A, n = 8) y la mitad no (grupo B, n = 7), todos los ratones en el tratamiento combinado respondieron y la mayoría de los tumores incluso retrocedieron significativamente.

Ejemplo 5: El compuesto D evita la resistencia adquirida a Afinitor (A) y conduce a la regresión de los tumores resistentes a Afinitor (B).

[0321] Sistema experimental: Xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de biopsia de adenocarcinoma uterino subcutáneo implantado en ratones NodScid, descrito en el ejemplo 4.

[0322] El experimento descrito en el Ejemplo 4 (fase I) se extendió a la fase II (Fig. 5A) y la fase III (Fig. 5B) del experimento. Después de los tratamientos descritos en la fase I (ejemplo 4), se sacrificaron los ratones cuyos tumores alcanzaron el punto final y se continuaron los siguientes tratamientos.

Fase II:

[0323]

1. El grupo respondedor de Afinitor (grupo A, cuadrados abiertos) se administró con Afinitor 5 mg/kg PO, qd (8 ratones).
2. El grupo de tratamiento combinado (círculos abiertos) continuó recibiendo el tratamiento con Afinitor 5 mg/kg PO (qod) + Compuesto D 70 mg/kg IV (qod) (6 ratones). Afinitor se administró ~4 h después del Compuesto D.

Fase III:

[0324] Los tumores en el grupo respondedor de Afinitor (grupo A) retrocedieron, pero durante el tratamiento adquirieron resistencia a Afinitor y progresaron agresivamente a un tamaño promedio de tumor de 590 mm³ en el día 6. El grupo se dividió en dos grupos de 4 ratones, cada uno de los cuales recibió los siguientes tratamientos el día 6 en adelante:

- El primero continuó recibiendo Afinitor 5 mg/kg PO, qd (4 ratones)
- y el segundo recibió Afinitor 5 mg/kg PO (qod) + Compuesto D 70mg/kg IV (qod) tratamiento combinado (4 ratones). Afinitor se administró ~4 h después del compuesto D.

[0325] La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron cada dos días y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. El gráfico de la figura 5A representa los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El gráfico en la figura 5B representa las tasas de crecimiento en %, mientras que el 100% para cada tumor se definió como su volumen en el día 6.

Resultados

[0326] El grupo tratado con Afinitor se dividió en respondedores (cuadrados abiertos, grupo A, n = 8) vs. no respondedores (cuadrados grises, grupo B, n = 7). El tratamiento con Afinitor del grupo A indujo inicialmente la regresión tumoral (los tumores retrocedieron del tamaño tumoral promedio de 125 mm³ en el día 0 a 37 mm³ en el día 5), pero durante el tratamiento todos los tumores desarrollaron resistencia a Afinitor y progresaron agresivamente (hasta un tamaño tumoral promedio de 590 mm³ en día 6).

[0327] El tratamiento combinado de Afinitor y Compuesto D desde el día 0 (inicio del tratamiento) indujo la regresión tumoral y su volumen tumoral promedio permaneció bajo hasta el final del experimento (Fig. 5A, O). Aunque el tumor inicial no ha respondido al Compuesto D solo, la resistencia adquirida a Afinitor fue completamente abolida por el Compuesto D. La evidencia de la literatura sugiere que el tratamiento con Afinitor induce una regulación positiva del IRS que conduce a la resistencia por la activación de IGF1R/IRS a AKT vía de supervivencia. mTOR/S6K es un regulador negativo de las proteínas del IRS. Fosforila el IRS en los residuos de serina y, por lo tanto, regula a la baja

5 sus niveles y disminuye su afinidad por los receptores de quinasas de tirosina (RTK) IGF1R e IR. La inhibición de mTOR/S6K debería estabilizar IRS1/2, aumentar sus niveles y mejorar su complejación con IGF1R e IR, lo que lleva a la activación de la vía de supervivencia AKT y la resistencia adquirida a los inhibidores de mTOR. Este ciclo de retroalimentación se describió en la literatura (Crose LES y Linardic CM Sarcoma 2011, Keniry M. y Parsons R. Cancer Discovery 2011; 1: 203-204) y se ha demostrado que la fosforilación de AKT es un fenómeno clínicamente observable después del tratamiento con el inhibidor mTOR Afinitor/Everolimus en mujeres con cáncer de mama. Sin desear limitarse a ninguna teoría o mecanismo de acción en particular, se cree que eliminar IRS 1/2 de la célula cancerosa mediante moduladores duales IRS/Stat3 como el Compuesto D y otros compuestos de fórmulas (I-IV) descritos en este documento será evitar la resistencia adquirida a Afinitor o cualquier otro inhibidor de mTOR, y puede sinergizar con estos inhibidores después de que la resistencia ya se ha adquirido para inducir la regresión del tumor.

15 **[0328]** Después de adquirir resistencia a Afinitor, los ratones del grupo A se dividieron en dos grupos, el primero permaneció solo en Afinitor (□) y el segundo recibió tratamiento combinado de Afinitor + Compuesto D a partir del día 6 de tratamiento (●). Mientras que los tumores progresaron significativamente bajo tratamiento con Afinitor solo (□), el tratamiento combinado del Compuesto D y Afinitor indujo la regresión tumoral (●). El gráfico de la figura 5B representa las tasas de crecimiento en %, mientras que el 100% para cada tumor se definió como su volumen en el día 6.

20 **Ejemplo 5A: Tratamiento combinado con Afinitor + Compuesto D de cáncer altamente agresivo sin tratamiento médico disponible retrasó la resistencia adquirida a Afinitor y logró una respuesta completa en el 40% del grupo.**

[0329] Sistema experimental: xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de biopsia subcutánea de adenoarcoma uterino implantada en ratones NodScid, descrita en el ejemplo 4.

25 **[0330]** El experimento descrito en el Ejemplo 4 se repitió en ratones comprados de Harlan.

Tratamientos:

[0331]

- 30
1. Control: 20% de HPbCD 50ul IP, qod (3 ratones).
 2. Compuesto D 70 mg/kg en 20% de HPbCD, IV, 3 veces a la semana, qod (3 ratones).
 3. Afinitor 5 mg/kg PO, 4 veces por semana (17 ratones).
 - 35 4. Afinitor 5 mg/kg PO (qod) + Compuesto D 70mg/kg IV (qod), 3 veces a la semana (5 ratones). Afinitor se administró ~4 h después del Compuesto D.

[0332] Los tratamientos cesaron el día 17.

40 **[0333]** La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron cada dos días y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). Cinco días después del inicio del tratamiento, los tumores del grupo de control y el grupo del Compuesto D ya alcanzaron el punto final y los ratones fueron sacrificados.

Resultados

45 **[0334]** Como se muestra en el experimento anterior, aunque el Compuesto D solo (triángulos abiertos) no tuvo efecto sobre el crecimiento tumoral, el tratamiento combinado de Afinitor + Compuesto D (círculos negros) condujo a la regresión del tumor. Los tumores en el grupo respondedor de Afinitor (14 de 17 ratones tratados) retrocedieron, pero durante el tratamiento, después de una semana de tratamiento, adquirieron resistencia a Afinitor y progresaron agresivamente (cuadrados abiertos). El tratamiento combinado de Afinitor y el Compuesto D retrasó significativamente la resistencia adquirida a Afinitor en el 60% del grupo (3 de 5 ratones tratados, línea discontinua de ciclos abiertos) y borró completamente los tumores en el 40% del grupo (2 de 5 ratones tratados, línea continua de ciclos abiertos). Estos dos ratones se mantuvieron vivos sin tratamiento adicional y permanecieron libres de enfermedad después de más de 3 meses sin tratamiento adicional (Figura 5C).

Ejemplo 6:

I. Líneas celulares

[0335]

- 60
- A375 (melanoma humano), HCT15 (cáncer de colon), SK-ES,1 (sarcoma de Ewing), NCI-H460 (cáncer de pulmón) y PC3 (cáncer de próstata) se cultivaron en RPMI con 10% de suero de ternera fetal (FCS).
 - 65 • HepG2 (hepatocarcinoma) se cultivaron en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) y F12 (1:1) que contenía FCS al 10%.
 - DU145 (cáncer de próstata) se cultivaron en RPMI que contenía FCS al 5% y 5 mg/L de insulina.

[0336] Todas las líneas celulares se obtuvieron de la American Type Culture Collection. YUMAC, YURIF, YUSIK (todo melanoma humano, amablemente proporcionado por la profesora Ruth Halaban, Universidad de Yale, New Haven, CT) se cultivaron en OptiMEM que contenía FCS al 5%. M571, M2068, M560n (todo melanoma humano, amablemente proporcionado por el Dr. Michal Lotem, Hadassah Hospital, Jerusalén, Israel) se mantuvieron en RPMI, DMEM y F12 (1:3:1) que contenían FCS al 10%. 451-Lu (melanoma humano) y 451-Lu-BR (melanoma resistente a PLX4032; ref. 32) se mantuvieron en RPMI que contenía FCS al 5% (los medios para líneas resistentes contenían 1 mmol/L de PLX4032). Todos los medios se complementaron con 100 U/ml de penicilina y 100 mg/ml de estreptomina y todas las células se cultivaron a 37°C/5% de CO₂.

[0337] Todas las células de melanoma usadas y discutidas en las figuras 6-9 y la tabla 1 son de origen humano y portan el BRAF^{600K/E} mutado.

II. Proliferación celular

[0338] Las células se cultivaron en medio completo y se trataron con inhibidores un día después de la siembra. 72 horas después, las células supervivientes se cuantificaron mediante tinción con azul de metileno o mediante tinción con WST-1 para células no adherentes (Roche).

III. Inmunoblots

[0339]

- Las células se trataron como se indica en las figuras 6-9 y las leyendas de las figuras correspondientes, después de una inanición sérica durante la noche (a menos que se indique lo contrario). Cuando las células se trataron tanto con PLX4032 como con los compuestos A o D, se añadió PLX4032 3-4 horas después de los compuestos.
- Las células se lisaron con tampón de muestra hirviendo (10% de glicerol, 50 mmol/L de Tris-HCl, pH 6,8, SDS al 3% y 2-mercaptoetanol al 5%). El análisis de transferencia Western se realizó en SDS-PAGE al 8%, usando los anticuerpos descritos a continuación.
- Alícuotas de extractos celulares que contenían cantidades iguales de proteína se resolvieron en un 8% de SDS/PAGE y se sometieron a electroboturación en filtros de nitrocelulosa. Las membranas se bloquearon con leche baja en grasa diluida 1:20 en TBST (NaCl/Tris que contenía Tween-20 al 0,2%) durante 0,5 horas, se incubaron con anticuerpo de conejo anti-fosfoY705-Stat3 (señalización celular cat nº 9131), anti-ERK-difosforilado-YT de ratón (Sigma Aldrich cat nº M8159) o anticuerpos anti-PARP durante la noche a 4°C en BSA al 5% en TBST que contiene azida al 0,05%, lavado abundantemente con TBST y luego incubado con anticuerpos secundarios conjugados con peroxidasa de rábano picante durante 45 minutos a temperatura ambiente en 5% BSA en TBST.
- Las bandas inmunorreactivas se visualizaron usando quimioluminiscencia mejorada. Las membranas se volvieron a secar con anticuerpo anti-Stat3 de ratón (Transduction labs cat nº 21320) o con conejo anti AKT1/2 (Santa cruz cat nº sc-8312) o Anti-Actina como se describió anteriormente.

IV. Quimiotaxis de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)

[0340] Se sembraron células A375 en placas de 96 pocillos (6000 células/pocillo) y se cultivaron durante la noche. Las células se trataron con el Compuesto A y se lavaron dos veces con el medio 4 horas después del tratamiento donde se indicó (Lavado). 30 horas después del tratamiento, se transfirieron 150 ul de medio a la placa inferior del dispositivo de quimiotaxis. Se añadieron 10.000 PBMC/75 ul de medio/pocillo a la placa superior. Además, se agregaron PBMC en la placa inferior como control positivo (Figura 9B - Gráfico de calibración Cell Titer Glo, 10-10.000 células/pocillo). La quimiotaxis se examinó 24 horas después mediante análisis Cell Titer Glo de la placa inferior. En adición, la supervivencia de las células A375 se analizó por azul de metileno 30 horas después del tratamiento con el Compuesto A.

Tabla 1: Los moduladores duales de IRS/Stat3 inhiben potentemente la proliferación y la viabilidad de varias células cancerosas como en comparación con IGF1R inhibidor OSI-906.

Indicación	Línea celular	CI50 (uM)		
		Compuesto D	Compuesto A	OSI-906
Cancer de prostata	PC3	0,5	0,8	> 10
Melanoma	Mel1617-Pa	0,2	0,3	> 3
	Mel1617-BR	0,3	0,3	>3
	451Lu-Pa	0,3	ND	>>3
	451Lu-BR	0,6	< 0.7	>>3
Cáncer de colon	HCT15	0,8	ND	>>3

(Continuación)

Indicación	Línea celular	CI50 (uM)		
		Compuesto D	Compuesto A	OSI-906
Mieloma múltiple	MM15	0,2	0,3	0,2
Hepatocarcinoma	HepG2	0,7	1	8,3

[0341] Las células se sembraron en placas de 96 pocillos en 5-10% de FCS en medio; un día después expuesto a varias concentraciones de compuesto A, compuesto D u OSI-906 y 3 días después teñido con azul de metileno y se cuantificó el número de células relativo.

Resultados

[0342] Se descubrió que los compuestos A y D, que previamente se demostró que inducen la fosforilación de serina del IRS 1/2, inducen eficazmente una reducción en los niveles de fosforilación de Y705 de Stat3 en células cancerosas. Estos moduladores duales de IRS/Stat3 inhiben potentemente la fosforilación de Stat3 (pStat3) de una manera dependiente de la dosis (Fig. 6A) sin afectar los niveles de proteína Stat3. El efecto inhibitorio demostrado por el compuesto A y D se potencia con el tiempo: los valores de CI50 de ambos compuestos fueron ~2 μ M 1,3 h después del tratamiento y disminuyeron a <1 μ M 3 h más tarde. El efecto inhibitorio descrito sobre los niveles de fosforilación de Stat3 es a largo plazo (Fig. 6B) ya que puede detectarse mucho después de que los moduladores hayan eliminado las células (Fig. 6C). La Figura 6C también demuestra que una exposición corta de células de melanoma A375 al Compuesto D fue suficiente para inducir la apoptosis celular 24 y 48 horas más tarde. El bloqueo de la fosforilación de Stat3 Y705 se ejemplifica para los compuestos A, B, C, D, F, IV-1, IV-2, IV-3 y IV-4.

[0343] Dado que se informa que Stat3 está involucrado tanto en la supervivencia y la resistencia a los medicamentos como en la evasión inmune de varios tipos de cáncer, se probó la capacidad de los moduladores duales Stat3/IRS para sensibilizar tumores a medicamentos inhibidores de PK específicos e inmunoterapias, respectivamente.

[0344] Los niveles de fosforilación de Stat3 en el melanoma que adquirió resistencia al inhibidor de BRAF (BRAFi) como PLX4032 (también conocido como Vemurafenib o Zelboraf) es significativamente mayor en comparación con las células/tumores de melanoma originales (Figura 7A y 7B). Se muestra en un clon de melanoma metastásico 451-LU-BR [Villanueva et al. Cancer Cell 2010; 18: 683-95] aislado después de 6 meses de tratamiento con BRAFi (R), en comparación con la línea celular 451-LU de melanoma metastásico original antes del tratamiento (P). Además se demuestran los niveles más altos de fosforilación de Stat3 en células (R) tomadas de pacientes (M2068, M560n, M571) que han sido tratados con PLX4032 y desarrollaron resistencia hacia él, en comparación con las células de melanoma de pacientes ingenuos (N) que portan BRAF mutado (YUMAC, YURIF, YUSIK) pero aún no se trataron con BRAFi (Fig. 7B).

[0345] Los niveles de proteína de Stat3 son similares en todas las muestras, solo los niveles de fosforilación se mejoran dramáticamente en las células resistentes a PLX4032.

[0346] Sorprendentemente, se descubrió en células de melanoma sensibles a PLX4032 que el tratamiento con PLX4032 1 μ M durante 18-24 h indujo una inducción marcada en la fosforilación de Stat3 Y705 (pStat3). Fue probado y demostrado en tres diferentes líneas celulares de melanoma metastásico humano (Fig. 7C-E). Los resultados de la figura 7 sugieren que el aumento de pStat3 puede desempeñar un papel en la resistencia adquirida a BRAFi y que las células resistentes adaptan un nivel de pStat3 alto constante como factor de supervivencia. Por lo tanto, se especuló que la combinación de moduladores duales IRS/Stat3 con BRAFi puede evitar la resistencia adquirida a BRAFi, así como a otras drogas que inducen la regulación positiva de pStat3 y/o IRS1 y/o IRS2. El potencial de los moduladores duales IRS/Stat3 para prevenir la resistencia adquirida a dichos fármacos se demuestra de hecho en el Ejemplo 1, que muestra que el compuesto D evitó la resistencia adquirida a Erlotinib en HNSCC derivado de un paciente e implantado en ratones.

[0347] Además, pStat3 tiene un papel importante en la evasión inmune del tumor, regula al alza la expresión y secreción de factores inmunosupresores y regula a la baja los mediadores proinflamatorios, enmascarando así los tumores del sistema inmune local. Además de las células cancerosas, diversos subconjuntos inmunes en el microambiente tumoral también muestran Stat3 activado constitutivamente, y el bloqueo de Stat3 en las células inmunes también puede provocar una potente respuesta inmune antitumoral (citotoxicidad aumentada de células NK y neutrófilos, activación de células T y aumento de la infiltración tumoral, etc.). Por lo tanto, se especuló que la combinación de nuestros moduladores duales IRS/Stat3 con inmunoterapia regulará a la baja pSTAT3 y sensibilizará el tumor a varios agentes de inmunoterapia.

[0348] Aquí se demuestra que los moduladores duales IRS/Stat3, representados por los compuestos A y D, bloquean tanto los niveles basales como los inducidos por PLX4032 de pStat3, mientras que el inhibidor de IGF1R/IR TK OSI-906 no tuvo efecto sobre pStat3 niveles (Fig. 7E y 8A). Al probar la importancia de este hallazgo en términos de actividad anticancerígena, se comparó la actividad antiproliferativa de los moduladores duales IRS/Stat3 frente al

inhibidor de IGF1R/IR TK OSI-906 en varios tipos de cáncer. La Tabla 1 muestra que los compuestos A y D son mucho más efectivos que OSI-906 en varias células de melanoma (tanto resistentes a PLX4032 como sensibles a PLX4032); en células de cáncer de colon resistentes a diversas quimioterapias y EGFRi; en células de cáncer de próstata (resistentes a varias quimioterapias) y carcinoma hepatocelular (resistente a EGFRi). Estas diferencias entre los moduladores duales y el inhibidor de la tirosina quinasa de IGF1R/IR sugieren que inhibir tanto el Stat3 como el IRS, proteínas de unión central altamente involucradas en la supervivencia y la resistencia a los medicamentos, puede contribuir al potencial de los moduladores duales para sensibilizar las células cancerosas resistentes a diversas terapias.

[0349] Como se describió previamente en la figura 6A y B, hay niveles aumentados de pStat3 en células de melanoma que desarrollaron resistencia a BRAFi. Las Figuras 8A y B muestran que los compuestos A y D bloquean completamente la fosforilación de Stat3 en estos clones de líneas celulares de melanoma resistentes a PLX4032 (451-LU-BR descritos anteriormente y Me11617-BR [Villanueva et al. Cancer Cell 2010; 18: 683-95]) así como en células de melanoma derivadas de dos pacientes [M2068 (i) y M571 (ii)] que han adquirido resistencia al tratamiento con PLX4032 (Fig. 8C). La Figura 8C demuestra una mejor actividad del compuesto D en comparación con el compuesto A. Estos resultados sugieren que los moduladores duales IRS/Stat3 pueden volver a sensibilizar las células de melanoma que han adquirido resistencia a BRAFi, y la terapia combinada de los moduladores duales IRS/Stat3 con BRAFi puede inducir regresión tumoral de los tumores resistentes. El potencial de los moduladores duales IRS/Stat3 para volver a sensibilizar los tumores resistentes al fármaco al fármaco, de hecho se demuestra en los ejemplos 2 y 3, lo que demuestra que la combinación del compuesto D con Erlotinib induce la regresión de los tumores HNSCC resistentes a Erlotinib en ratones.

[0350] La capacidad de los moduladores duales IRS/Stat3 para inhibir pStat3 se demostró en varios tipos de cáncer, como se demostró previamente por su efecto sobre la fosforilación y eliminación de IRS 1/2 Ser. La Figura 8D ejemplifica su actividad inhibitoria en la fosforilación de Stat3 Y705 (pStat3) en cáncer de próstata, mieloma múltiple, sarcoma de Ewing, carcinoma hepatocelular y NSCL.

[0351] El sistema inmune es una fuerza poderosa, en gran parte sin explotar, para combatir tumores. Los tumores han desarrollado mecanismos sofisticados para evadir el sistema inmune. Stat3 tiene un papel crucial en la mediación de la diafonía entre las células tumorales y las células inmunes que interactúan con el tumor. Dirigirse a Stat3 en tumores implica la muerte de células tumorales espectadoras asociadas con la infiltración de varias células efectoras inmunes. Por lo tanto, se probó si el tratamiento de células tumorales con moduladores duales IRS/Stat3 puede inducir el reclutamiento de células mononucleares de sangre periférica hacia las células cancerosas. Las células de melanoma humano A375 se trataron con concentraciones crecientes de compuesto A y se lavaron dos veces con el medio 4 horas después del tratamiento donde se indicó (lavado). 30 horas después del tratamiento, el medio celular se transfirió a la placa inferior del dispositivo de quimiotaxis, y se añadieron 10.000 PBMC/pocillo humanos a la placa superior. La quimiotaxis de las PBMCs hacia las muestras de medio A375 se examinó 24 horas más tarde por análisis de Cell Titer Glo de la placa inferior. Como se muestra en la figura 9A, fue detectada quimiotaxis dependiente de la dosis, lo que sugiere expresión/secreción de las citoquinas reguladas por el compuesto A induciendo reclutamiento de PBMC hacia el tumor tratado. Por lo tanto, la combinación de nuestros moduladores duales con inmunoterapia puede aumentar los efectos antitumorales. Estos moduladores duales IRS/Stat3 deberían sensibilizar los tumores a otras inmunoterapias o inhibidores de PK (EGFRi, mTORi, etc.) al afectar directa e indirectamente las células tumorales y el microambiente del tumor, incluidas las células inmunes que interactúan con el tumor.

[0352] Ejemplo 7: El tratamiento combinado del anticuerpo EGFR Cetuximab con el Compuesto D muestra un retraso dramático en la recurrencia tumoral en comparación con Cetuximab solo en ratones implantados con un tumor de un paciente con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC). Lo mismo es cierto cuando se usan Cetuximab + Afatinib en lugar de Cetuximab.

[0353] Sistema experimental: Xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de biopsia tumoral HNSCC subcutánea implantada en ratones NodScid.

I. Animales y biopsia

[0354]

- Implantación del injerto de biopsia tumoral HNSCC (P6) en ratones NodScid para estudio de eficacia: pocos meses después de la implantación del injerto de biopsia tumoral HNSCC congelado (P1) en ratones, se inyectaron células tumorales (P6) en ratones NodScid (generados por la cría interna), utilizando el mismo procedimiento descrito para la implantación de P1. La biopsia original es la misma que la descrita anteriormente y la P indica pasajes (número de implantación en ratones).
- El inicio del crecimiento tumoral (masa tumoral palpable) se detectó cuatro días después de la inyección celular. Cinco días después, se iniciaron tratamientos en ratones que desarrollaron tumores de un tamaño de alrededor de 113 mm³. Los ratones se dividieron aleatoriamente en 6 grupos de tratamiento, incluidos 4 animales en los grupos tratados con Cetuximab, Cetuximab + Afatinib, Cetuximab + Compuesto D, Cetuximab + Afatinib +

Compuesto D, y 3 ratones en los grupos tratados con Vehículo o Compuesto D. Tratamientos iniciados simultáneamente (en el día 0) y aplicados por un período de 9 días.

II. Tratamientos y procedimientos

[0355] Los grupos de tratamiento incluyeron:

1. Control del vehículo: Vehículo (0,5% de hidroximetilcelulosa, 0,4% de Tween-80) 200 μ l de PO (5 veces/semana, qd).
2. Compuesto D 70 mg/kg en HPbCD, IV (3 veces/semana, qod).
3. Cetuximab 1mg/ratón IP (2 veces/semana).
4. Cetuximab mg/ratón IP (2 veces/semana) + Compuesto D 70 mg/kg IV (3 veces/semana). Cetuximab se administró ~4 h después del Compuesto D, cuando se administró en los mismos días.
5. Cetuximab 1mg/IP del ratón (2 veces/semana) + Afatinib 25 mg/kg en el vehículo PO (5 veces/semana).
6. Cetuximab 1mg/IP del ratón (2 veces/semana) + Afatinib 25 mg/kg PO (5 veces/semana) + Compuesto D 70mg/kg IV (3 veces/semana). Cetuximab y/o Afatinib se administraron ~4 h después del Compuesto D, cuando se administraron los mismos días.

[0356] La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron 2-4 veces a la semana y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El peso y el comportamiento de los ratones se examinaron al menos una vez a la semana. Se sacrificaron los ratones y se extirparon los tumores para análisis bioquímico y genómico.

Resultados

[0357] Como se muestra en la Figura 10, en los primeros 4 días de tratamiento todos los tumores progresaron, pero luego, el tratamiento con Cetuximab, Cetuximab + Compuesto D, Cetuximab + Afatinib o Cetuximab + Afatinib + Compuesto D condujo a una regresión tumoral dramática en todos los ratones, mientras que todos los tumores en los ratones tratados con vehículo y en los ratones tratados con Compuesto D (como tratamiento independiente) progresaron agresivamente. Tratamientos aplicados por un período de 9 días solamente. Ocho días después de la finalización de los tratamientos, los tumores del grupo tratado con Cetuximab comenzaron a volver a crecer y progresaron agresivamente, y una semana después los tumores del grupo tratado con Cetuximab + Afatinib progresaron, mientras que las combinaciones con el Compuesto D extendieron las respuestas positivas a >4 semanas después del final del tratamiento.

[0358] Afatinib es un inhibidor irreversible de tirosina quinasa EGFR de segunda generación desarrollado para superar la resistencia adquirida a los bloqueadores de EGFR, derivado de la mutación EGFR T790M, que es el mecanismo más frecuente de resistencia adquirida a los inhibidores de tirosina quinasa EGFR.

Conclusión

[0359] El tratamiento combinado del Compuesto D con Cetuximab o incluso Cetuximab + Afatinib solo durante 9 días, retrasó significativamente la recurrencia de tumores regresivos y una respuesta prolongada a Cetuximab o Cetuximab + Afatinib.

Ejemplo 8: El compuesto D se sinergia con la combinación de fármacos, que comprende inhibidores de BRAF mutado y MEK, para inducir una regresión tumoral dramática en ratones implantados con células tumorales de un paciente con melanoma que ha adquirido resistencia a Vemurafenib.

[0360] Sistema experimental: xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de melanoma subcutáneo inyectado en ratones NodScid.

I. Animales y biopsia

[0361]

- Biopsia: se extrajo la biopsia de un paciente con melanoma que albergaba un BRAf V600E mutado que mostró una respuesta corta a Vemurafenib, y las células se sembraron en placas. Las células de paso temprano (millones de células/ratón) se inyectaron por vía subcutánea (SC) en ratones hembra NOD.CB17-Prkdc scid/J (NodScid) de 10 semanas de edad (generadas por la cría interna). El inicio de los tumores se detectó cinco días después, y los tratamientos se iniciaron siete días después de la inyección celular cuando el volumen promedio del tumor fue ~60 mm³.

II. Tratamientos y procedimientos

[0362] Cuando el tamaño del tumor era $\sim 60 \text{ mm}^3$ (día0) se iniciaron los siguientes tratamientos:

- 5 5. Control (vehículo): Vehículo de Vemurafenib + Trametinib PO - 5% de propilenglicol, 0,5% de Tween-80, 30% de PEG 400 en DDW estéril (5 veces/semana, qd), 6 ratones
6. Compuesto D 70 mg/kg en 20% de 2-hidroxi-propilo- β -ciclodextrina (HPbCD), IV (3 veces/semana, qod), 6 ratones
7. Vemurafenib 75 mg/kg + Trametinib 1 mg/kg PO (5 veces/semana, qd), 20 ratones.
- 10 8. Vemurafenib 75 mg/kg + Trametinib 1 mg/kg PO (5 veces/semana, qd) + Compuesto D 70 mg/kg IV (3 veces/semana), 7 ratones. Vemurafenib + Trametinib se administraron ~ 4 h después del Compuesto D, cuando se administraron en los mismos días.

[0363] Todos los tratamientos para cada uno de los grupos de tratamiento 1-4 se iniciaron simultáneamente.

[0364] La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron 4 veces a la semana y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El peso y el comportamiento de los ratones se examinaron al menos dos veces por semana.

Resultados

[0365] Como se muestra en la Figura 11, mientras estaba en tratamiento con Vemurafenib + Trametinib, los tumores progresaron agresivamente el día 6 de tratamiento (Figura 11, cuadrados abiertos), todos los tumores en el tratamiento combinado con Compuesto D (Vemurafenib + Trametinib + Compuesto D) regresado (Figura 11, círculos abiertos).

[0366] Vemurafenib fue el primer inhibidor de BRAf mutado aprobado por la FDA para el tratamiento de pacientes con melanoma que albergan mutaciones en BRAf^{V600}. Desafortunadamente, pocos meses después del inicio del tratamiento, los pacientes desarrollaron resistencia a Vemurafenib y los tumores regresados resurgieron de manera más agresiva. En consecuencia, la combinación del inhibidor de BRAf mutado y el inhibidor de MEK se aprobó para el tratamiento de pacientes con melanoma que albergan mutaciones en BRAf^{V600}, pero aún se adquiere resistencia. Mostramos que dos vías de retroalimentación son inducidas por el tratamiento de las células en cultivo con Vemurafenib (inhibidor de BRAf mutado) o Trametinib (inhibidor de MEK): los niveles de IRS y STAT3 fosforilado aumentan. Ambas vías son centrales para la supervivencia celular, la proliferación, la metástasis y la angiogénesis. Sin desear estar sujeto a ninguna teoría o mecanismo de acción en particular, el Compuesto D y los compuestos de fórmulas (I-IV) descritos aquí son inhibidores duales de IRS 1/2 y Stat3 y, por lo tanto, deben antagonizar estos mecanismos inducidos por la MAPK. Los inhibidores de la vía (como los inhibidores mutados de BRAf y los inhibidores de MEK), sinergizan con estos inhibidores (con cada uno solo o con las combinaciones de ellos) y evitan la resistencia a estos inhibidores.

Ejemplo 9: El compuesto D sinergiza con el inhibidor de MEK Trametinib para inducir la regresión tumoral en ratones implantados con tumor de un paciente con carcinoma adenoide cíclico que alberga mutación en BRAF.

[0367] Sistema experimental: Xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de biopsia tumoral de carcinoma adenoide cíclico implantado subcutáneamente en ratones NodScid.

I. Animales y biopsia

[0368]

- 50 • Biopsia: biopsia de tumor de carcinoma adenoide cíclico primario humano fresco. El análisis genómico reveló BRAf mutado.
- Implantación de un injerto de biopsia tumoral de carcinoma adenoide cíclico RA_148 en ratones NodScid para estudio de eficacia:
- 55 • Implantación de injertos de biopsia tumoral (P0): se implantaron subcutáneamente injertos de biopsia tumoral de carcinoma adenoide cíclico primario humano (SC) en NOD.CB17-*Prkdcscid*/J (ratones NodScid).
- La implantación de injertos de biopsia tumoral (P5) en ratones hembra NodScid (generados por la cría interna) para el estudio de eficacia, se realizó utilizando el mismo procedimiento descrito anteriormente para la implantación de HNSCC.
- 60 • El inicio del crecimiento tumoral (masa tumoral palpable) se detectó en todos los ratones cinco días después de la inyección celular. Después de tres días adicionales, los ratones desarrollaron tumores con un tamaño promedio de aproximadamente 65 mm^3 . Los ratones se dividieron aleatoriamente en grupos de tratamiento que incluían 5 animales/grupo. El grupo tratado con vehículo incluyó 4 ratones.

II. Tratamientos y procedimientos

[0369] Los grupos de tratamiento incluyeron:

1. Control del vehículo: vehículo de Trametinib (5% de propilenglicol, 0,5% de Tween-80, 30% de PEG 400 en DDW estéril) 200 µl PO (5 veces/semana, qd).
2. Compuesto D 70 mg/kg en HPbCD, IV (3 veces/semana, qod).
3. Trametinib 1 mg/kg PO (5 veces/semana, qd).
4. Trametinib 1 mg/kg PO (5 veces/semana, qd) + Compuesto D 70 mg/kg IV (3 veces/semana). Trametinib se administró ~4 h después del Compuesto D, cuando se administró en los mismos días.

[0370] Todos los tratamientos para cada uno de los grupos de tratamiento 1-4 se iniciaron simultáneamente en el día 0, y el estudio incluyó dos fases de tratamientos día0-día13 y día24-día31.

[0371] La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron 2-4 veces a la semana y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El peso y el comportamiento de los ratones se examinaron al menos dos veces por semana.

Resultados

[0372] Como se muestra en la Figura 12, el tratamiento con Trametinib indujo la regresión tumoral, pero durante el tratamiento después del día 10, los tumores progresaron. El tratamiento combinado de Trametinib y el Compuesto D indujo la regresión tumoral y ninguno de estos tumores volvió a crecer durante el tratamiento. Una segunda fase de tratamiento en los días 24-31 indujo una regresión tumoral dramática en todos los ratones tratados con Trametinib pero la respuesta fue transitoria y después de 4 días de tratamiento, los tumores adquirieron resistencia al tratamiento y progresaron agresivamente durante el tratamiento. El tratamiento de la segunda fase con la combinación de Trametinib + Compuesto D indujo la regresión tumoral y ninguno de estos tumores volvió a crecer durante el tratamiento.

Conclusión

[0373] Aunque el tratamiento del tumor inicial con el Compuesto D solo condujo a una inhibición moderada del crecimiento tumoral, el tratamiento combinado con Trametinib y el Compuesto D condujo a una regresión tumoral dramática y la resistencia adquirida al Trametinib fue abolida por el Compuesto D. Evidencia de la literatura sugiere que el tratamiento con Trametinib induce una regulación positiva del IRS que conduce a la resistencia por la activación de la vía de supervivencia IGF1R/IRS a AKT. Otros informes afirman que Trametinib induce la fosforilación de Stat3 en las células cancerosas, lo que conduce a la supervivencia y la resistencia adquirida a Trametinib. Sin desear limitarse a ninguna teoría o mecanismo de acción en particular, el Compuesto D y otros compuestos de fórmulas (I-IV) descritos aquí son inhibidores duales de IRS1/2 y Stat3 y, por lo tanto, deben antagonizar estos mecanismos de retroalimentación inducidos por Trametinib y prevenir la resistencia.

Ejemplo 10: El Compuesto D vuelve a sensibilizar los tumores resistentes a gemcitabina a gemcitabina en ratones implantados con tumor de una metástasis hepática de un paciente con cáncer de páncreas.

[0374] Sistema experimental: xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de una biopsia de metástasis de cáncer de páncreas del hígado, implantado por vía subcutánea en ratones NodScid.

I. Animales y biopsia

[0375]

- Implantación de metástasis de cáncer de páncreas del injerto de biopsia tumoral hepático RA_160 (P5) en ratones NodScid para estudio de eficacia: varias semanas después de la implantación del injerto de biopsia de metástasis de hígado de cáncer de páncreas en ratones, células tumorales (P5) fueron inyectadas en ratones NodScid (generados por la cría interna), utilizando el mismo procedimiento descrito anteriormente.
- El inicio del crecimiento tumoral (masa tumoral palpable) se detectó diez días después de la inyección celular. Una semana después (en día0), 19 ratones con un tamaño tumoral promedio de 90 mm³ iniciaron tratamientos con Gemcitabina 25 mg/kg IP dos veces por semana durante 35 días. El día 11 todos los tumores en ratones tratados con gemcitabina retrocedieron mientras que los tumores en los 5 ratones de control progresaron. El día 21, el tamaño promedio del tumor en el grupo tratado con gemcitabina fue de ~5 mm³ en comparación con 1400 mm³ en el grupo control.
- 42 días después del inicio del tratamiento con resistencia a la gemcitabina se desarrollaron y progresaron los tumores en regresión. Cuatro días después, 16 ratones del grupo tratado con gemcitabina con un volumen tumoral promedio de ~110 mm³ se dividieron en dos grupos de la siguiente manera.

II. Tratamientos

[0376] Los grupos de tratamiento, después de la resistencia a la gemcitabina se han adquirido, incluidos:

1. Gemcitabina 25 mg/kg IP dos veces por semana
2. Gemcitabina 25 mg/kg IP + Compuesto D 70mg/kg IV, dos veces por semana.

5 **[0377]** La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron 2-4 veces a la semana y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El peso y el comportamiento de los ratones se examinaron al menos dos veces por semana.

10 Resultados

15 **[0378]** Los ratones fueron tratados con gemcitabina durante más de un mes hasta que los tumores en regresión adquirieron resistencia a la gemcitabina y progresaron. En este punto, los ratones tratados con gemcitabina se dividieron en dos grupos (figura 13): (a) gemcitabina (□); (b) Gemcitabina + Compuesto D (○). Los tratamientos se iniciaron cuando el tamaño promedio del tumor fue $\sim 110 \text{ mm}^3$. Si bien todos los tumores tratados con gemcitabina progresaron, el tratamiento combinado con el compuesto D + gemcitabina condujo a una regresión tumoral en la mitad del grupo, y a una inhibición significativa del crecimiento tumoral en términos del tamaño tumoral promedio del grupo en comparación con el grupo tratado con gemcitabina (figura 13A, valor $p = 7,35 \times 10^{-5}$).

20 **[0379]** Al final del experimento, se cultivaron piezas tumorales, de tamaño similar, de tres tumores por grupo en placas separadas para evaluar su viabilidad y actividad proliferativa. Nueve días después, las placas se fijaron y se tiñeron, mostrando una proliferación masiva en los tumores tratados con gemcitabina en oposición a una actividad proliferativa muy baja a insignificante en los tumores de ratones tratados con gemcitabina + Compuesto D (figura 13B).

25 Conclusión

[0380] El Compuesto D sorprendentemente sinergizó con el fármaco quimioterapéutico Gemcitabina para combatir la resistencia desarrollada a Gemcitabina en el cáncer pancreático.

30 **Ejemplo 11: El Compuesto D previene la resistencia adquirida al Cetuximab en ratones implantados con un tumor de un paciente metastásico de adenocarcinoma aneal**

[0381] Sistema experimental: Xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de **biopsia de carcinoma adeno metastásico Adnaxal primario humano** implantado subcutáneamente en ratones NodScid.

35 1. Animales y biopsia

[0382]

- 40
- Biopsia: biopsia metastásica (piel) de adenocarcinoma Adnaxal humano fresco (ID de muestra: RA-162)
 - Implantación de injertos de biopsia tumoral (P3) en ratones NodScid para estudio de eficacia: Cuando los tumores (P2) alcanzó un tamaño promedio de aproximadamente 1500 mm^3 , se inyectó tejido tumoral en 50 ratones NodScid machos, generados por la cría interna en las instalaciones de animales de la Universidad de Bar Ilan, en el mismo procedimiento descrito en el ejemplo 1.
- 45
- 19 ratones cuyos tumores alcanzaron un tamaño promedio de aproximadamente 90 mm^3 fueron incluidos en el estudio.

[0383] Los ratones se dividieron en 4 grupos y se iniciaron los siguientes tratamientos (día 0):

50

Control: Vehículo de NT219 (20% HPbCD) 50 μl IV dos veces por semana	- 5 ratones
Compuesto D 70 mg/kg IV dos veces por semana	- 6 ratones
Cetuximab 1 mg/IP del ratón dos veces por semana	- 5 ratones
Cetuximab (1 mg/IP del ratón) + Compuesto D (70 mg/kg IV), dos veces a la semana	- 3 ratones

55 **[0384]** En el grupo de combinación se administró Cetuximab ~ 4 horas después del Compuesto D.

60 **[0385]** La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron 4 veces a la semana y los volúmenes de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El peso y el comportamiento de los ratones se examinaron al menos una vez a la semana.

Resultados

65 **[0386]** Después de 5 días de tratamiento, los ratones del grupo de control alcanzaron su punto final (definido como el tamaño del tumor por encima de $1,5 \text{ cm}^3$) (Fig. 14) y se sacrificaron.

[0387] El tratamiento con Cetuximab condujo a una atenuación transitoria del crecimiento tumoral seguida de resistencia adquirida a Cetuximab, y durante el tratamiento los tumores progresaron (día 26 de tratamiento y en adelante).

[0388] El tratamiento combinado con Cetuximab + Compuesto D condujo a una regresión tumoral significativa, y mientras que el grupo tratado con Cetuximab mostró un volumen tumoral promedio de $>500 \text{ mm}^3$ - el volumen tumoral promedio del tratamiento combinado (Cetuximab + Compuesto D) fue solo 60 mm^3 al final del experimento (día34).

Ejemplo 12. El compuesto D evita la resistencia adquirida al tratamiento combinado de Cetuximab y FOLFIRI (un tratamiento aprobado para pacientes con cáncer de colon) en ratones implantados con un tumor de un paciente con cáncer de colon. FOLFIRI contiene el siguiente régimen:

[0389]

- **FOL** - ácido folínico (leucovorina), un derivado de la vitamina B utilizado como fármaco de "rescate" para altas dosis del fármaco metotrexato, pero aumenta la citotoxicidad del 5-fluorouracilo;
- **F** - fluorouracilo (5-FU), un análogo de pirimidina y antimetabolito que se incorpora a la molécula de ADN y detiene la síntesis; e
- **IRI**: irinotecán (Camptosar), un inhibidor de la topoisomerasa, que evita que el ADN se desenrolle y se duplique.

Sistema experimental: Xenoinjerto derivado del paciente (PDX) de biopsia de carcinoma metastásico de colon primario humano subcutáneo implantado en ratones NodScid.

1. Animales y biopsia

[0390]

- Biopsia: biopsia reciente de cáncer de colon humano (muestra ID: RA-149)
- Implantación de injertos de biopsia tumoral (P4) en ratones NodScid para estudio de eficacia: cuando los tumores (P3) alcanzaron un tamaño promedio de aproximadamente 1500 mm^3 , se inyectó el tejido tumoral en ratones DNOSCID varón, generado por cría interna en las instalaciones de animales de la Universidad Bar Ilan, en el mismo procedimiento descrito en el ejemplo 1.
- 36 ratones cuyos tumores alcanzaron un tamaño promedio de aproximadamente 110 mm^3 fueron incluidos en el estudio.

[0391] Los ratones se dividieron en 7 grupos y se iniciaron los siguientes tratamientos (día 0):

Control: Vehículo de NT219 (20% HPbCD) 50 μl IV dos veces por semana	- 5 ratones
Compuesto D 70 mg/kg IV dos veces por semana	- 5 ratones
Cetuximab 1 mg/IP del ratón dos veces por semana	- 5 ratones
FOLFIRI IP 5 veces por semana	- 5 ratones
Cetuximab 1 mg/IP del ratón dos veces por semana + FOLFIRI IP 5 veces por semana	- 5 ratones
Cetuximab 1mg/mouse IP dos veces por semana + FOLFIRI IP 5 veces por semana +	- 6 ratones
Compuesto D 70mg/kg IV dos veces por semana	

[0392] En el grupo de combinación Cetuximab se administró ~4 h después del Compuesto D.

[0393] En el cáncer de colon, Cetuximab no es eficaz como terapia independiente, por lo tanto, está aprobado para pacientes en combinación con quimioterapia como FOLFIRI. FOLFIRI incluye ácido folínico (leucovorina), 5FU e irinotecán.

[0394] La longitud (l) y la anchura (w) de los tumores se midieron 4 veces a la semana y el volumen de los tumores se calcularon como sigue: $v = lw^2/2$. Los gráficos representan los volúmenes tumorales promedio con errores estándar (desviaciones estándar/raíz cuadrada del tamaño del grupo). El peso y el comportamiento de los ratones se examinaron al menos una vez a la semana.

Resultados

[0395] No se detectó ningún efecto sobre el crecimiento tumoral en el grupo tratado con Cetuximab, Compuesto D o FOLFIRI solo. Pero la combinación de Cetuximab con FOLFIRI con o sin el Compuesto D condujo a una regresión significativa de los tumores (Fig. 15).

[0396] Después de 12 días de tratamiento, los tumores del grupo Cetuximab + FOLFIRI desarrollaron resistencia al tratamiento y progresaron, mientras que los tumores del grupo Cetuximab + FOLFIRI + Compuesto D retrocedieron y no adquirieron resistencia al tratamiento (Fig. 15).

5

Conclusiones

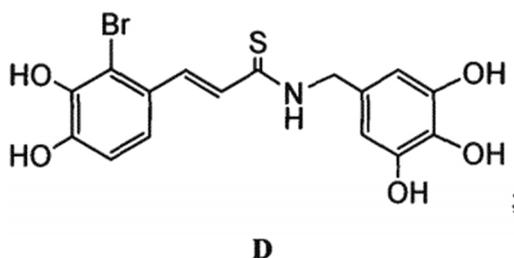
[0397] La FDA aprobó Cetuximab (Erbix) en combinación con el régimen FOLFIRI como tratamiento de primera línea para pacientes con cáncer colorrectal metastásico que resultaron negativos para la mutación *KRAS*. El cetuximab como monoterapia en el cáncer colorrectal generalmente no es efectivo. El modelo PDX de cáncer de colon de la biopsia RA_149 está de acuerdo con la condición clínica: el cetuximab como monoterapia no es eficaz, pero con quimioterapia como FOLFIRI induce una regresión tumoral dramática. Además, como desafortunadamente visto con los pacientes, se adquiere resistencia y progresan los tumores. Mostramos que la combinación de esta terapia con el Compuesto D previene la resistencia adquirida a Cetuximab + FOLFIRI, extendiendo la respuesta positiva.

10

15

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de EGFR y/o un anticuerpo EGFR en combinación con un compuesto representado por la estructura de fórmula D, para usar en el tratamiento de un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) y/o anticuerpo EGFR, o para prevenir la resistencia adquirida de un tumor a un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR, o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con un inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR, en donde la estructura del compuesto D se representa a continuación:



incluyendo sus sales;

en donde el inhibidor de EGFR se selecciona del grupo que consiste en AZD9291, erlotinib, afatinib, gefitinib, lapatinib, vandetanib, neratinib, icotinib, dacomitinib, poziotinib, CO-1686, HM61713 y AP26113; y en donde el anticuerpo EGFR se selecciona del grupo que consiste en cetuximab, panitumumab, trastuzumab y necitumumab.

2. La composición para uso según la reivindicación 1, en donde el inhibidor de EGFR es erlotinib, AZD9291 o afatinib.

3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo EGFR es cetuximab o panitumumab.

4. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la combinación comprende el compuesto D y cetuximab.

5. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la combinación comprende el Compuesto D y panitumumab.

6. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la combinación comprende el Compuesto D y erlotinib.

7. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la combinación comprende el Compuesto D y afatinib.

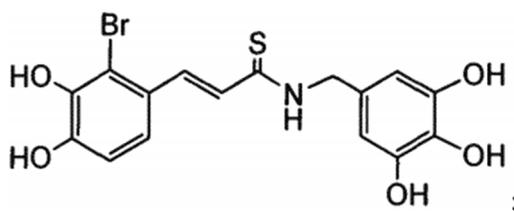
8. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la combinación comprende el Compuesto D y AZD9291.

9. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la combinación comprende el Compuesto D, cetuximab y afatinib.

10. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene tumores con resistencia adquirida al tratamiento con inhibidor de EGFR y/o anticuerpo EGFR, en donde el tratamiento da como resultado atenuación o regresión en el crecimiento de los tumores resistentes; o en donde el tumor está presente en un paciente con cáncer que está recibiendo tratamiento con un inhibidor de EGFR y/o un anticuerpo EGFR o es un candidato para recibir dicho tratamiento.

11. La composición para uso según la reivindicación 1, en donde el tumor está presente en un paciente con cáncer que tiene un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de cabeza y cuello (H&N), sarcoma, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cánceres hematopoyéticos, linfoma, leucemia, incluyendo leucemia linfoblástica, carcinoma de pulmón, melanoma, glioblastoma, hepatocarcinoma, cáncer de próstata y cáncer de colon; preferiblemente en donde la combinación comprende un compuesto de fórmula D y cetuximab, y en donde el tumor está presente en un paciente que tiene cáncer de cabeza y cuello (H&N).

12. Una combinación farmacéutica que comprende un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y/o un anticuerpo EGFR, en combinación con un compuesto representado por la estructura de la fórmula D:

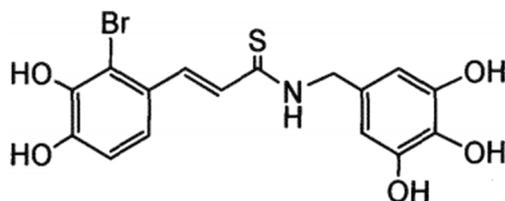


en donde el inhibidor de EGFR se selecciona del grupo que consiste en AZD9291, erlotinib, afatinib, gefitinib, lapatinib, vandetanib, neratinib, icotinib, dacomitinib, poziotinib, CO-1686, HM61713 y AP26113; y en donde el anticuerpo EGFR se selecciona del grupo que consiste en cetuximab, panitumumab, trastuzumab y necitumumab.

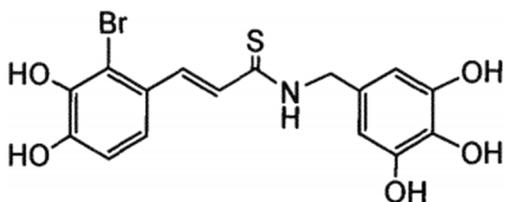
13. La combinación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 13, que se selecciona del grupo que consiste en

- 15
- (a) una combinación que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con cetuximab;
 - (b) una combinación que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con panitumumab;
 - (c) una combinación que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con AZD9291;
 - (d) una combinación que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con erlotinib;
 - (e) una combinación que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con afatinib; y
 - (f) una combinación que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con cetuximab y afatinib,
- 20
- 25

en donde la estructura del Compuesto D se representa a continuación:



14. Una combinación farmacéutica que comprende un compuesto representado por la estructura de fórmula D en combinación con cetuximab.



15. La combinación farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, para uso en el tratamiento de un tumor que ha desarrollado resistencia a un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y/o anticuerpo EGFR, o para prevenir resistencia de un tumor a un inhibidor de EGFR y/o un anticuerpo de EGFR, o para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor después de la interrupción del tratamiento con un inhibidor de EGFR y/o un anticuerpo de EGFR; preferiblemente en donde el tumor está presente en un paciente que tiene un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de cabeza y cuello (H&N), sarcoma, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cánceres hematopoyéticos, linfoma, leucemia, incluyendo leucemia linfoblástica, carcinoma de pulmón, melanoma, glioblastoma, hepatocarcinoma, cáncer de próstata y cáncer de colon; más preferiblemente en donde la combinación comprende un compuesto de fórmula D y cetuximab, y en donde el tumor está presente en un paciente que tiene cáncer de cabeza y cuello (H&N).

55

60

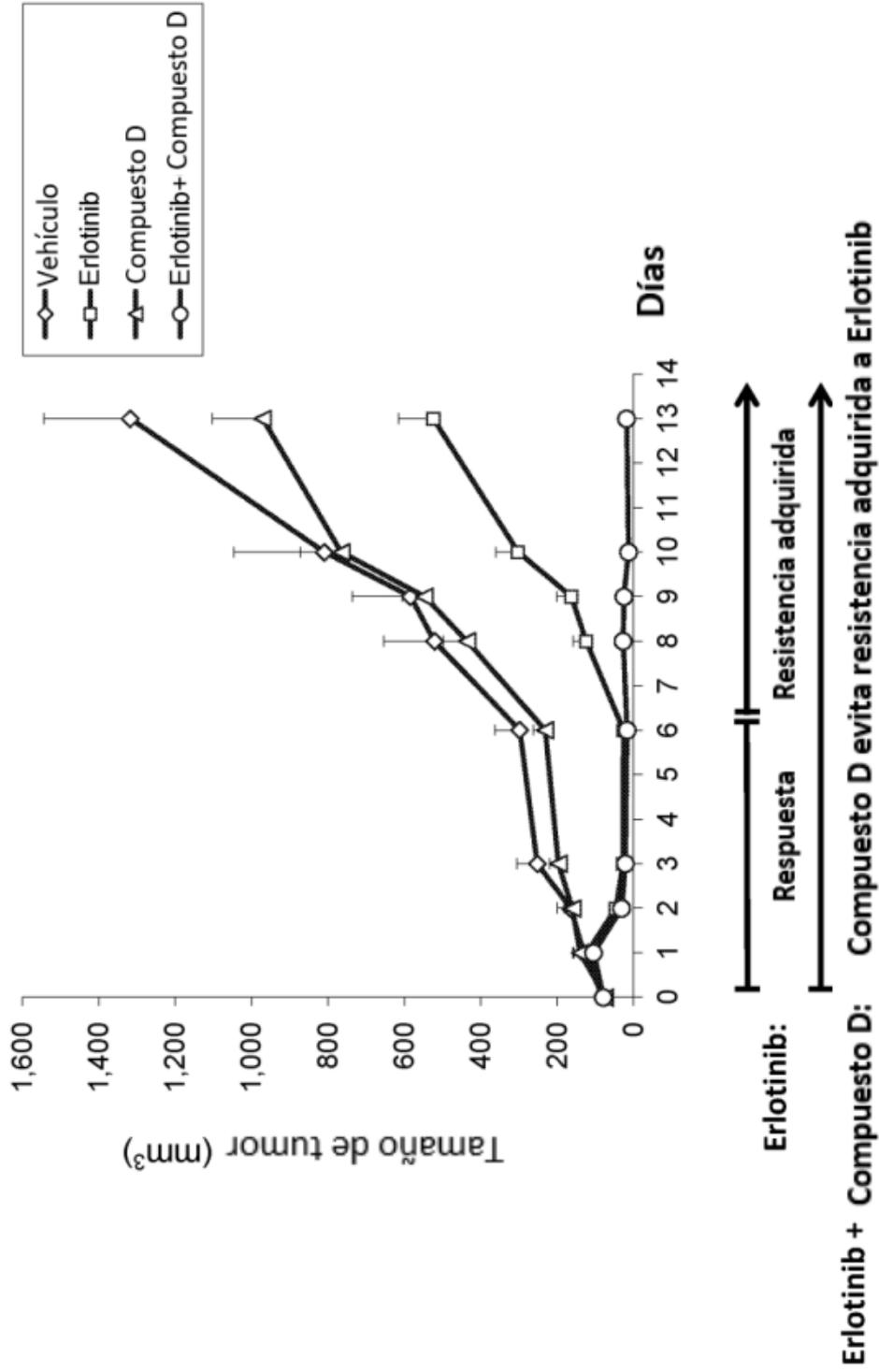


Figura 1

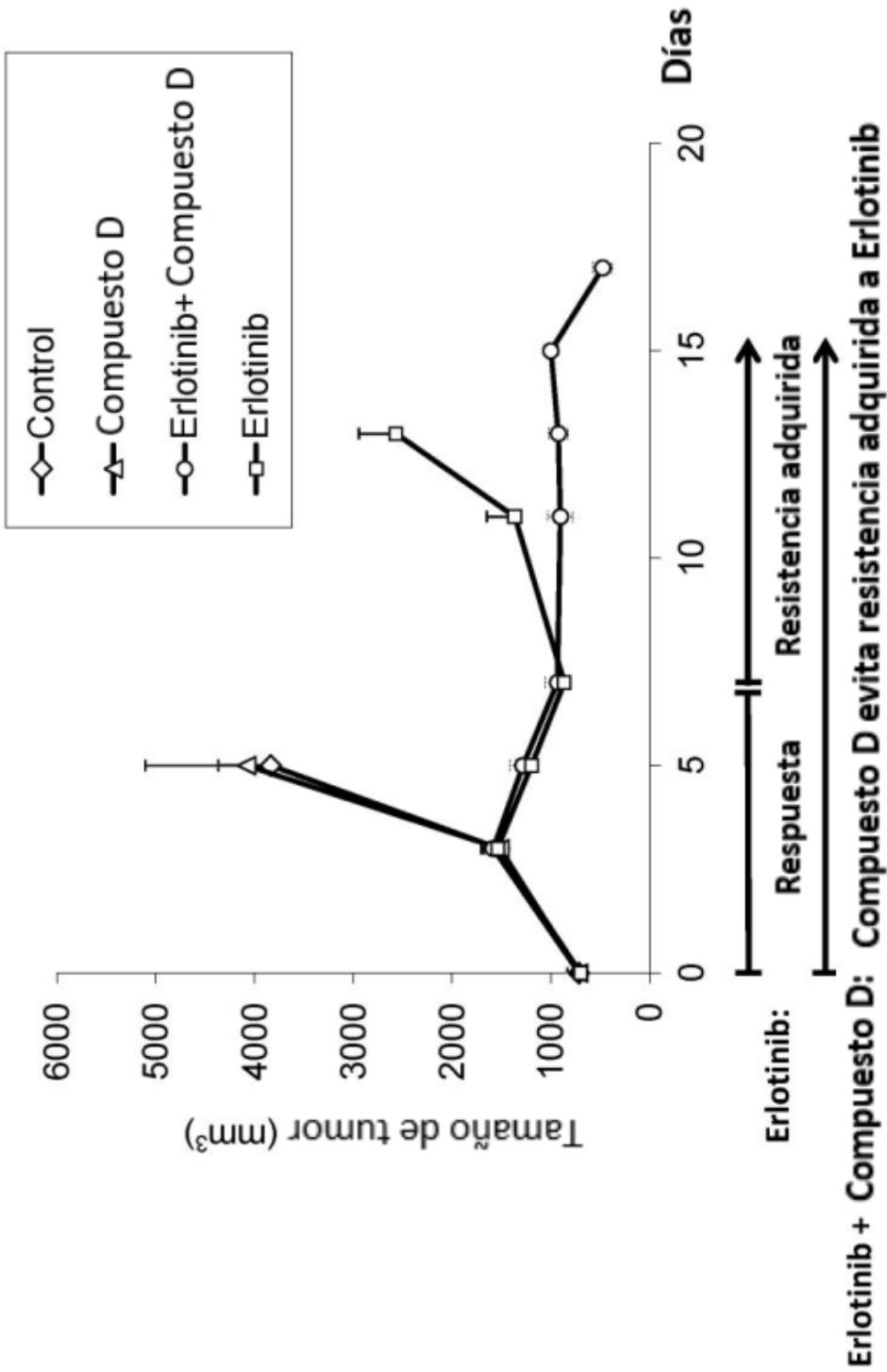


Figura 3

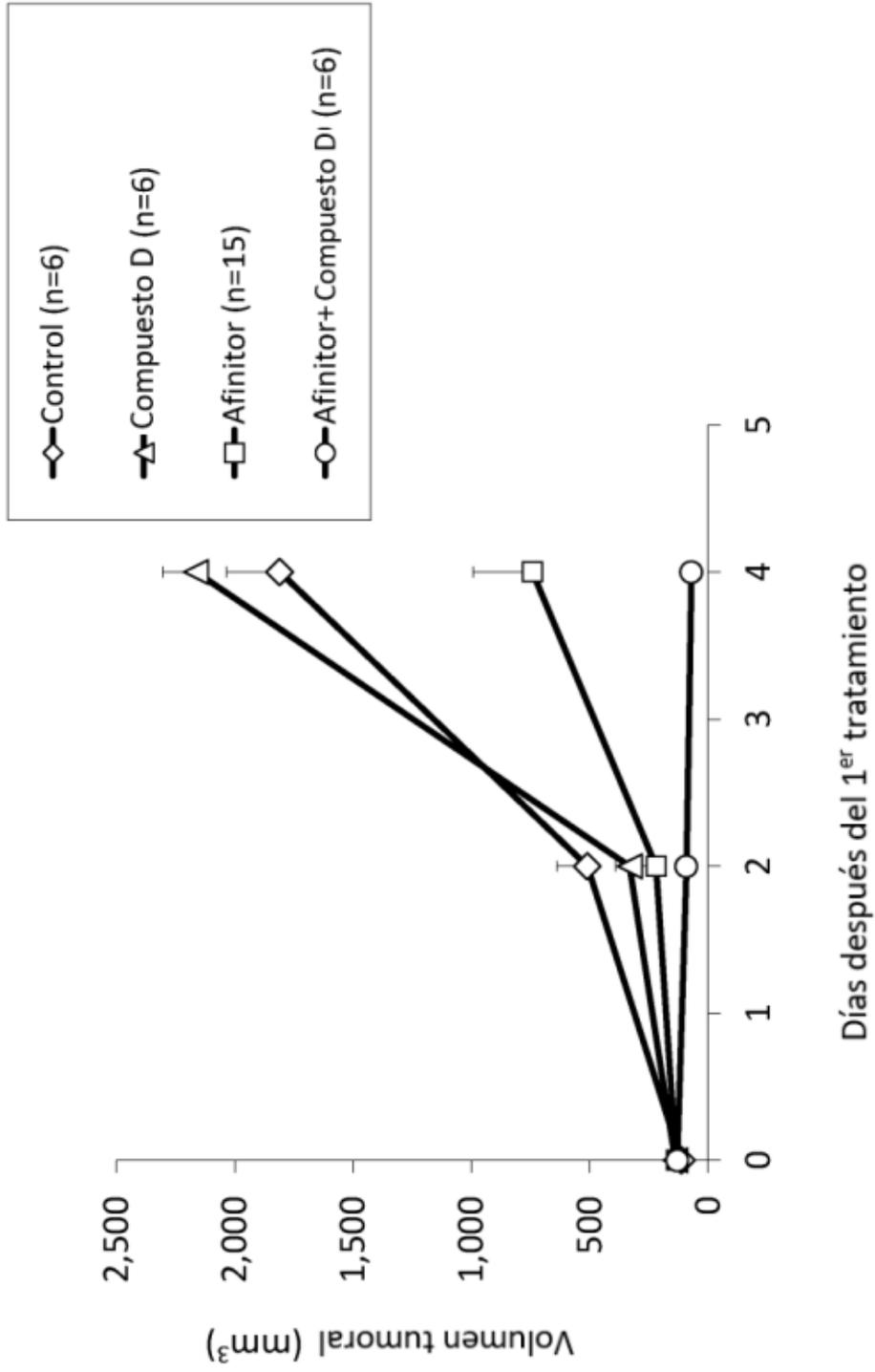


Figura 4

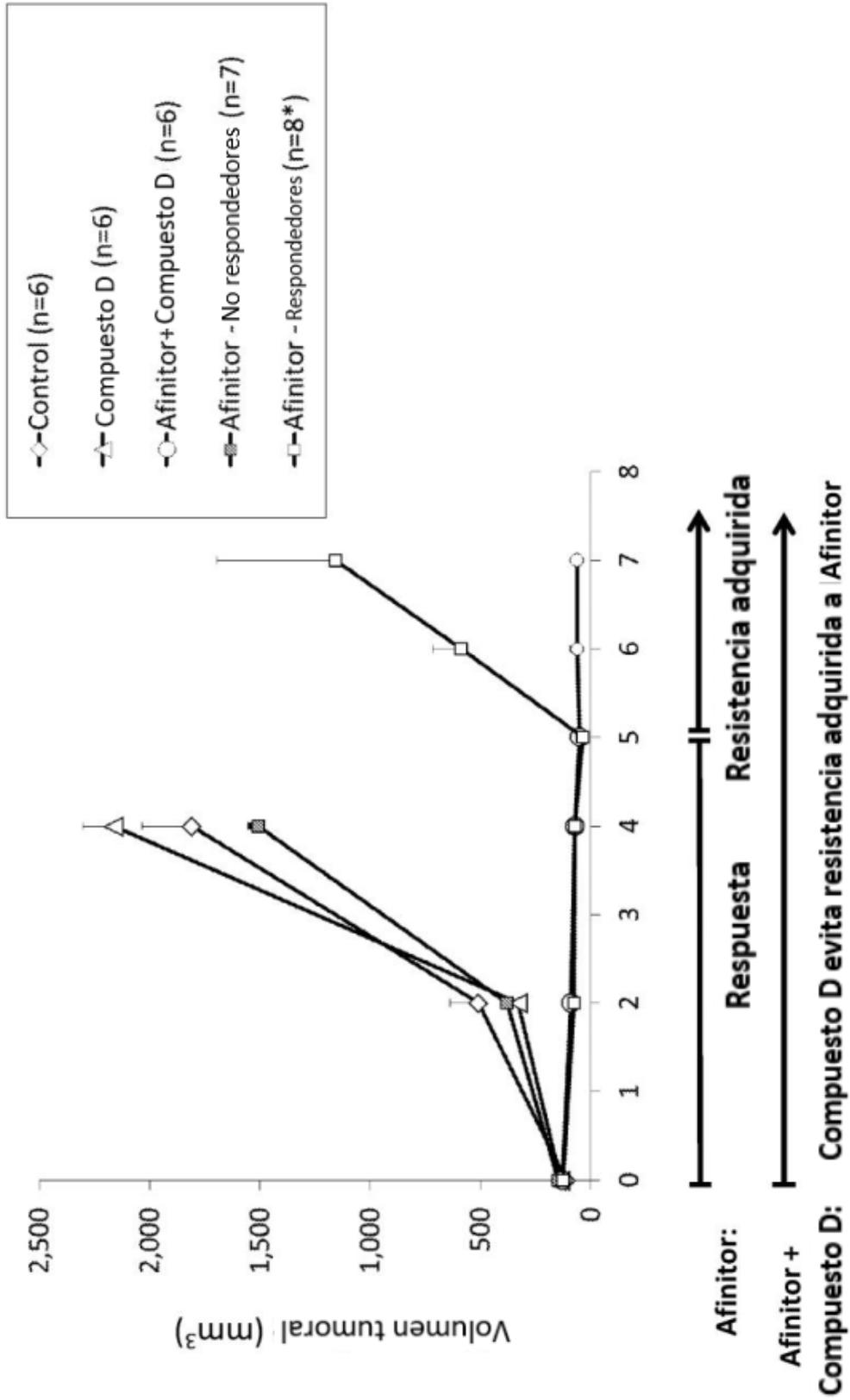


Figura 5A

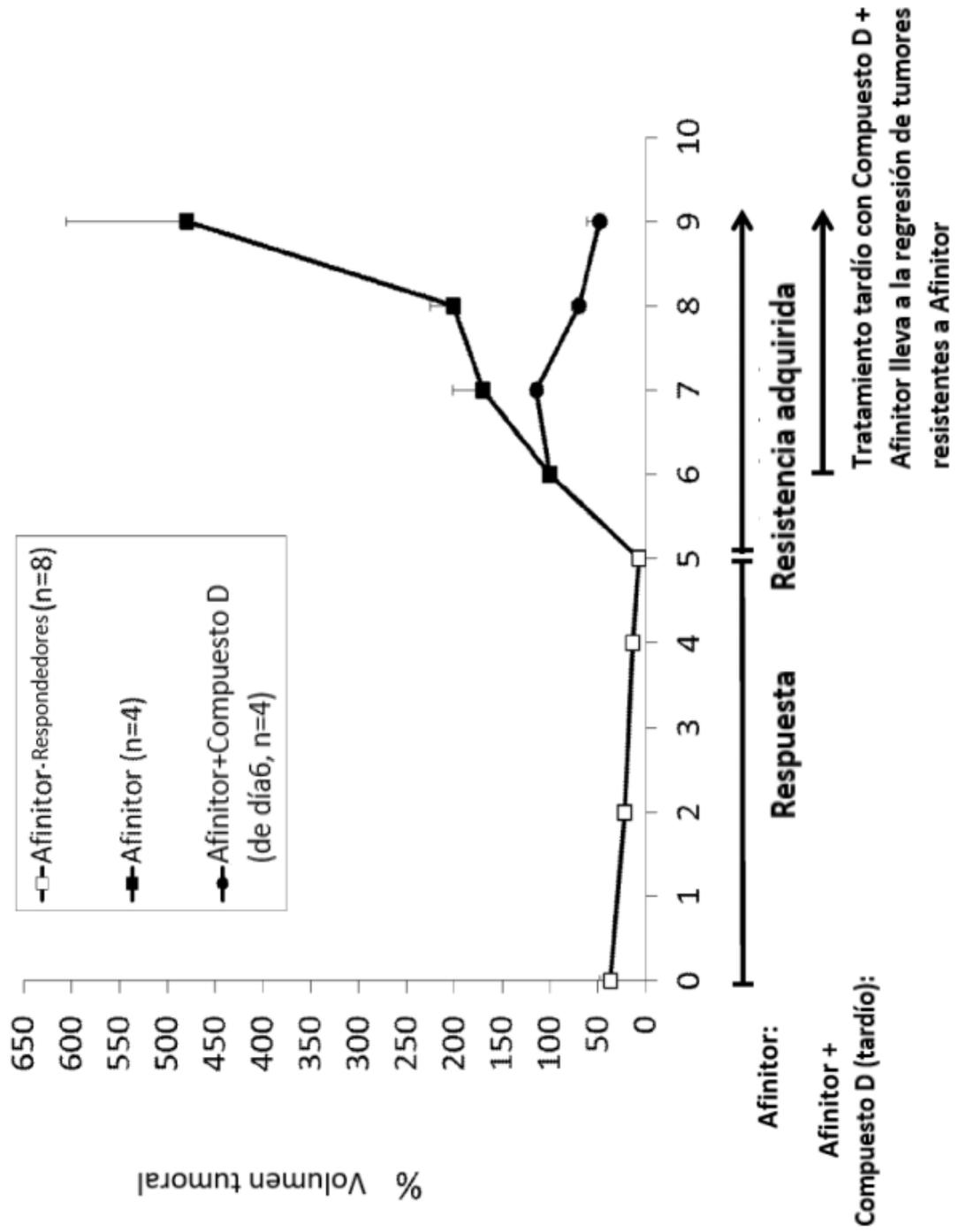


Figura 5B

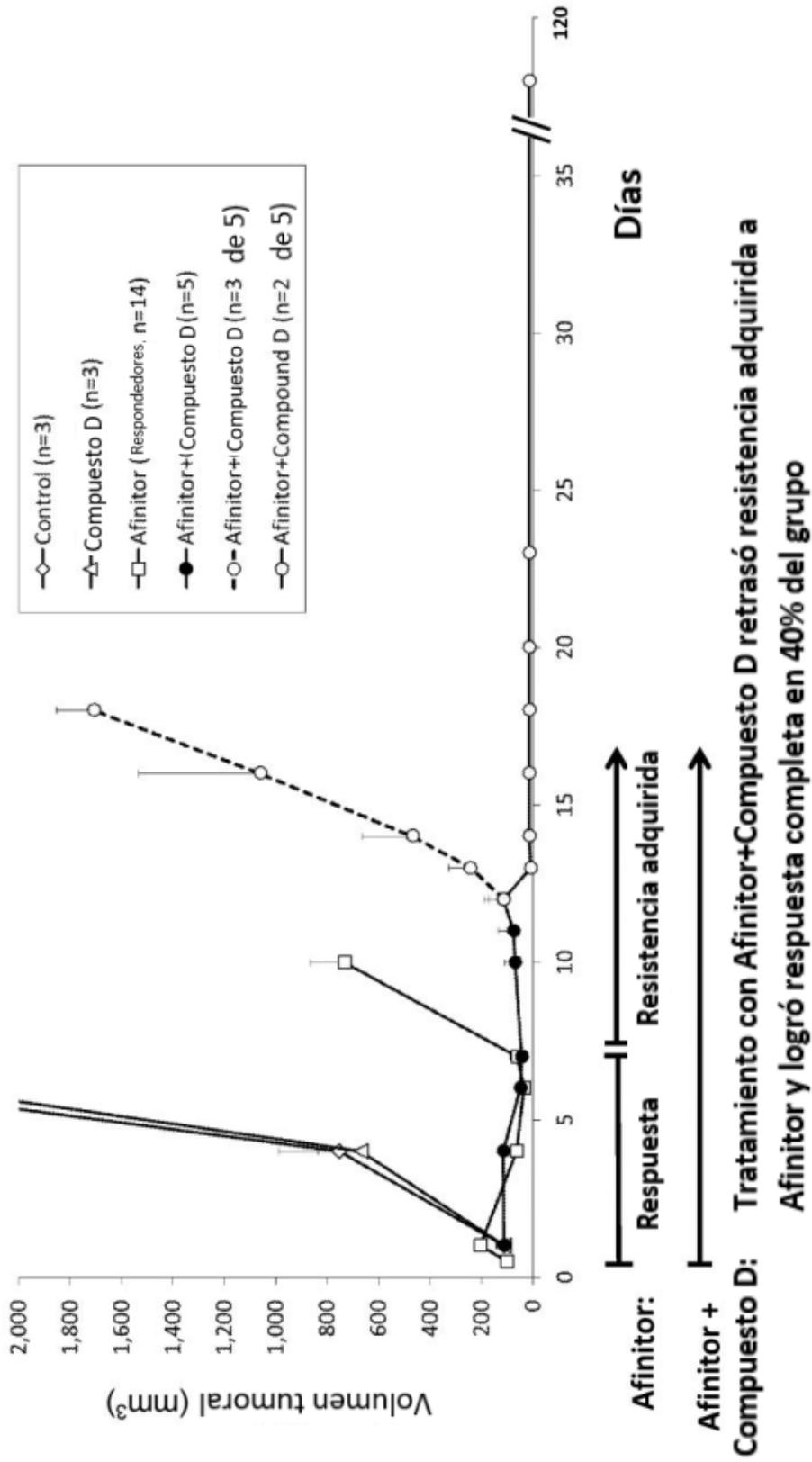


Figura 5C

Figura 6A

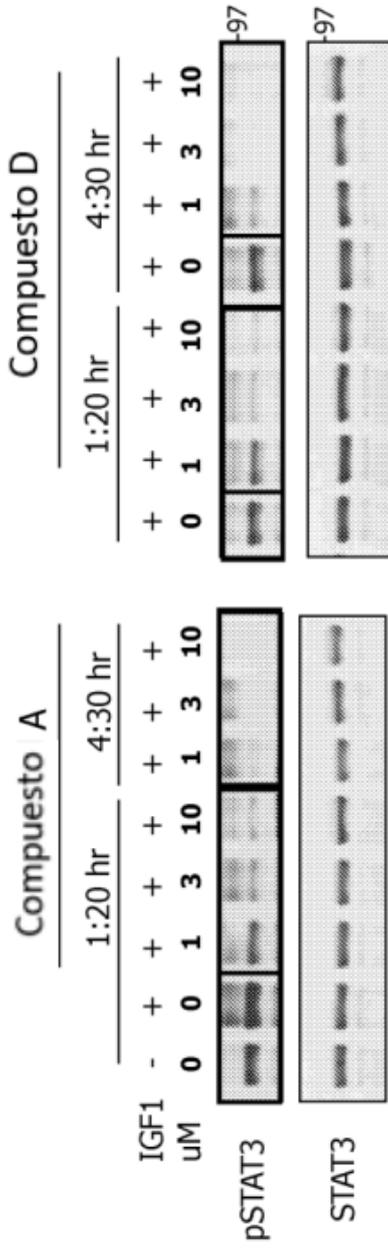


Figura 6B

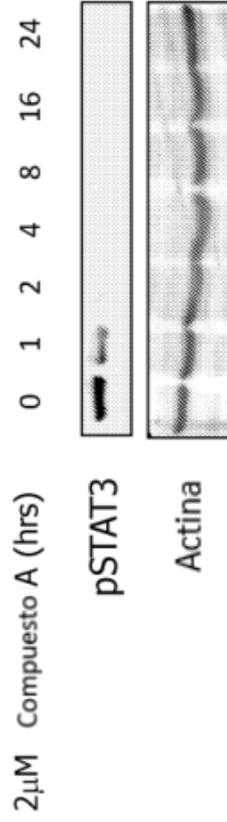


Figura 6 (i)

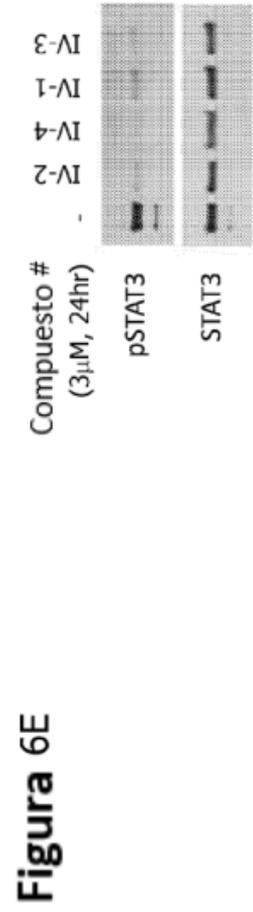
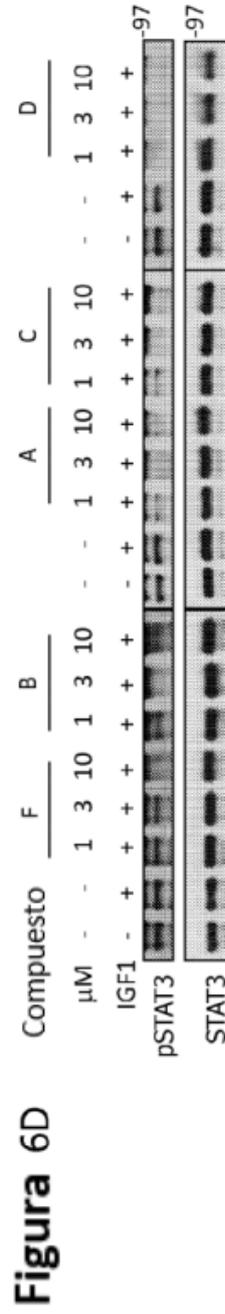
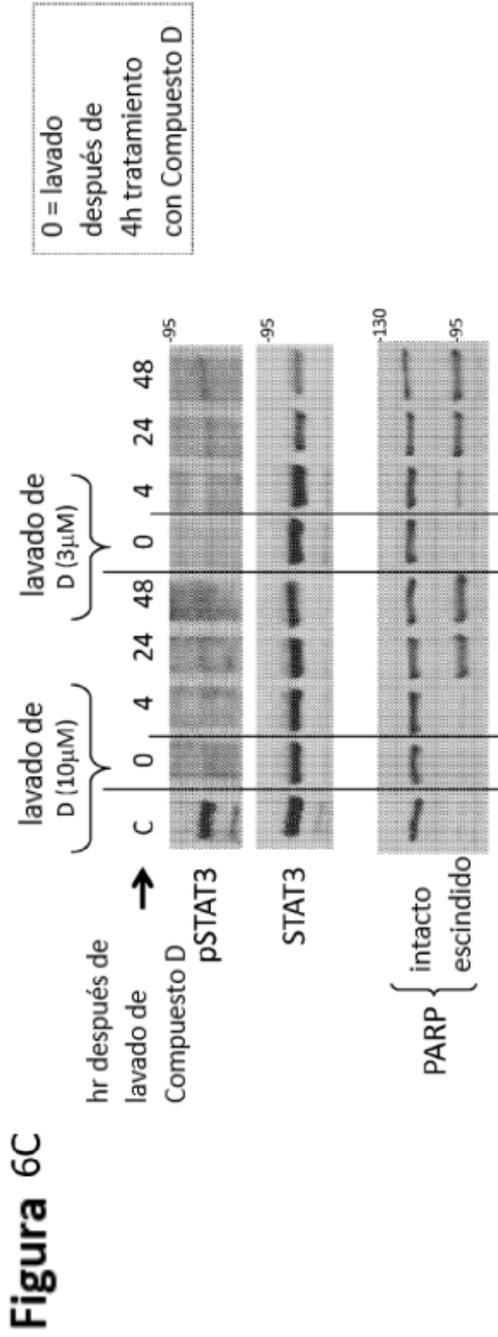


Figura 6 (ii)

Figura 7A

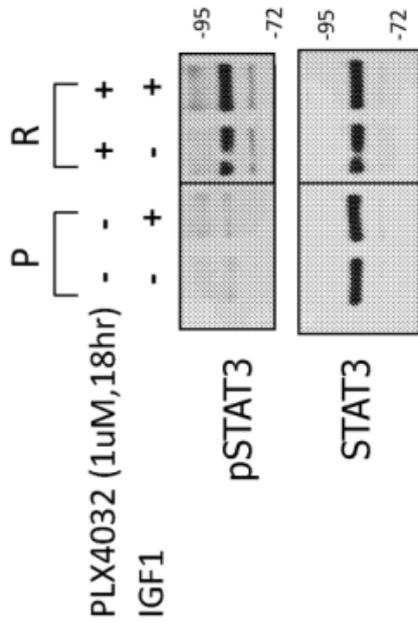


Figura 7B

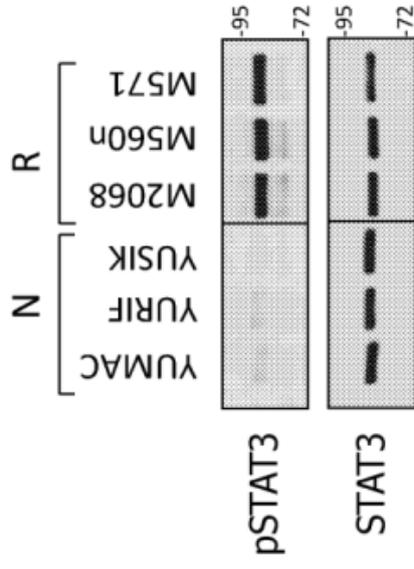


Figura 7 (i)

Figura 7C

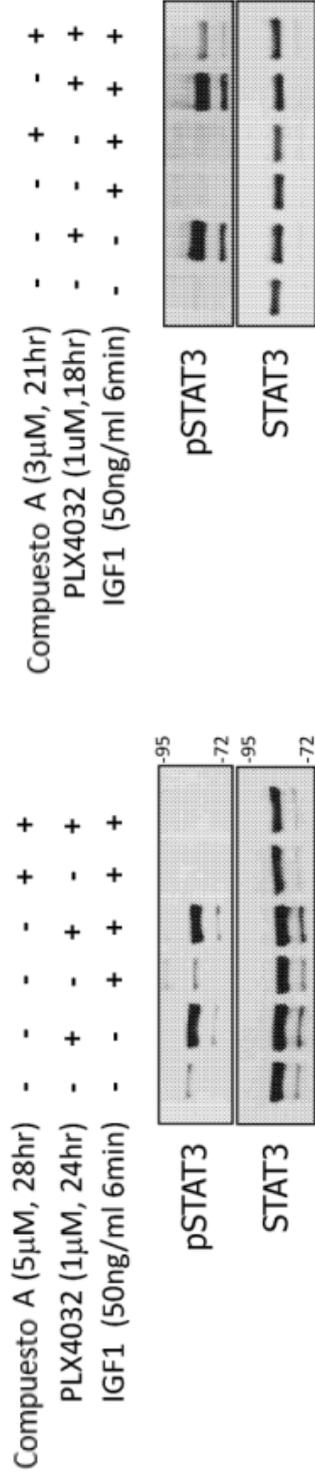


Figura 7D

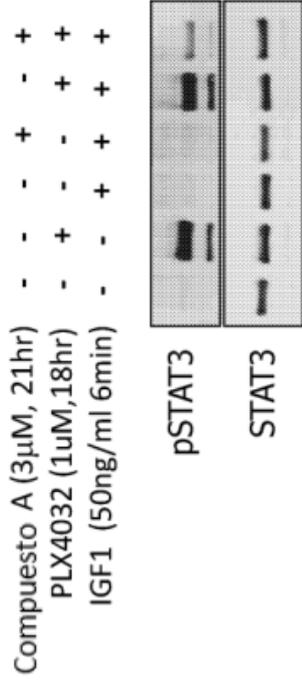


Figura 7E

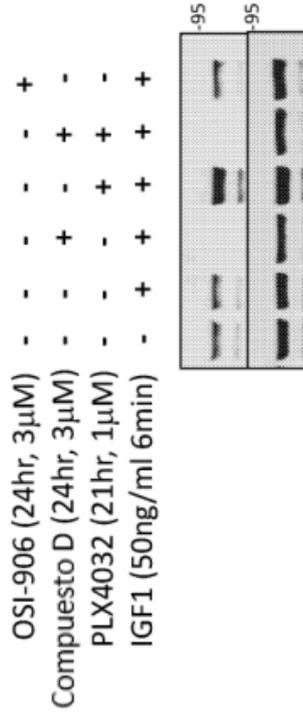


Figura 7 (ii)

Figura 8A

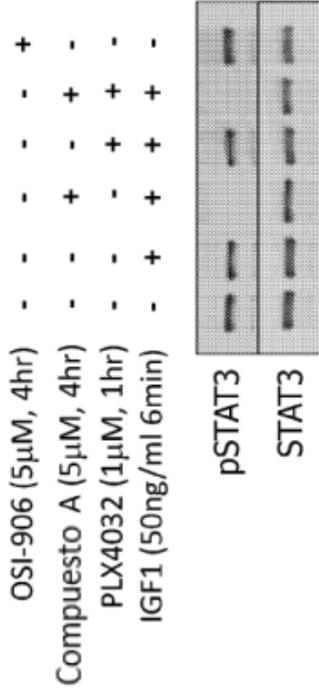


Figura 8B

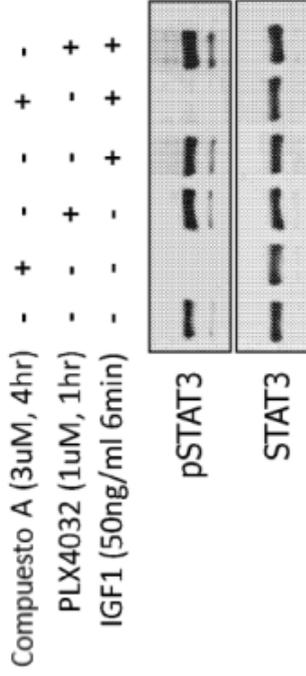


Figura 8C

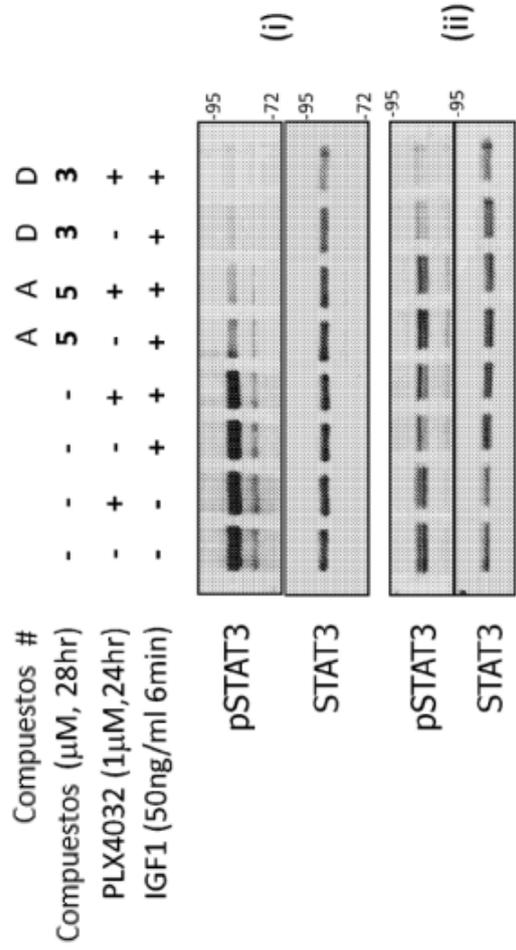


Figura 8 (i)

Figura 8D

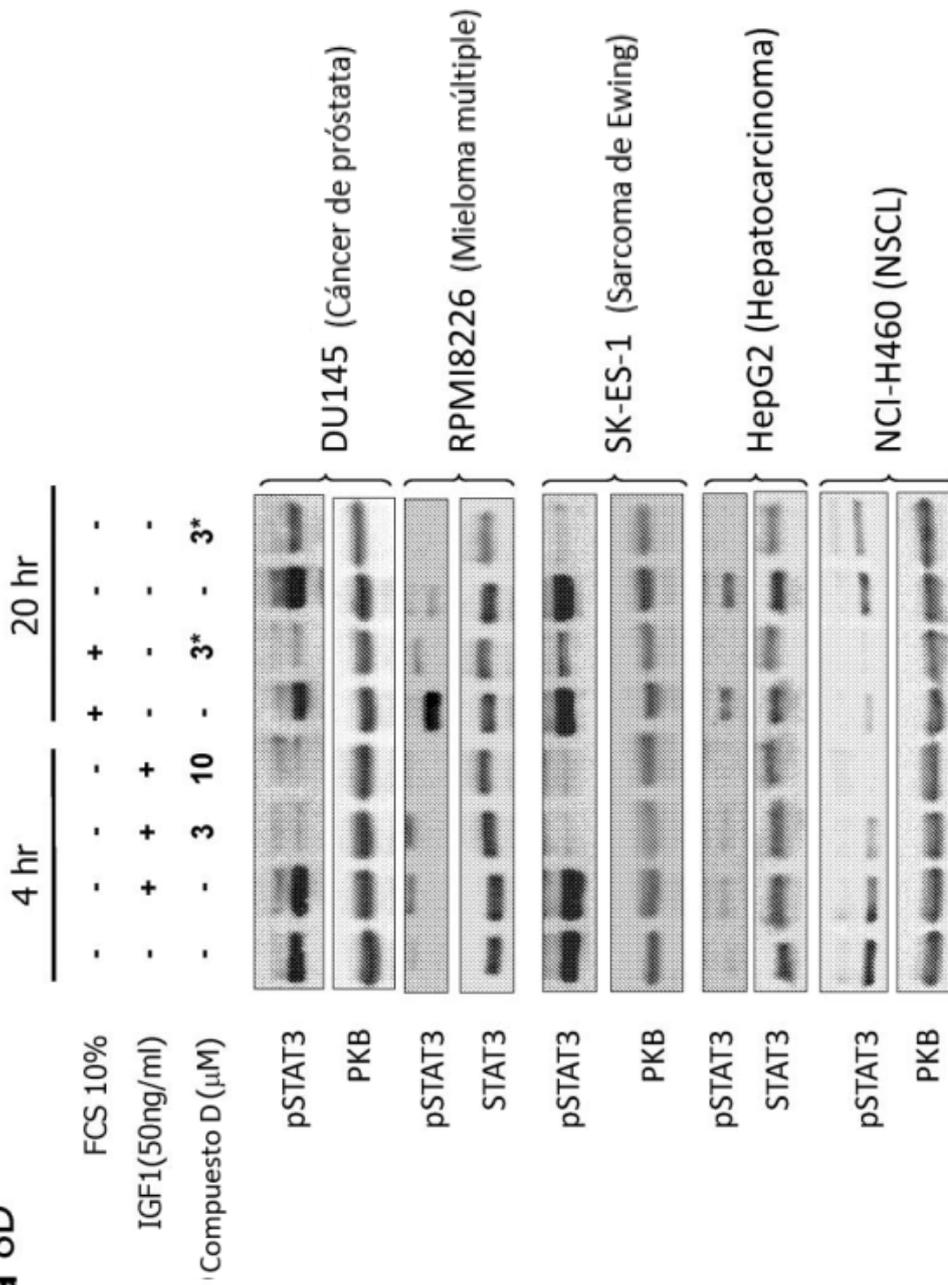


Figura 8 (ii)

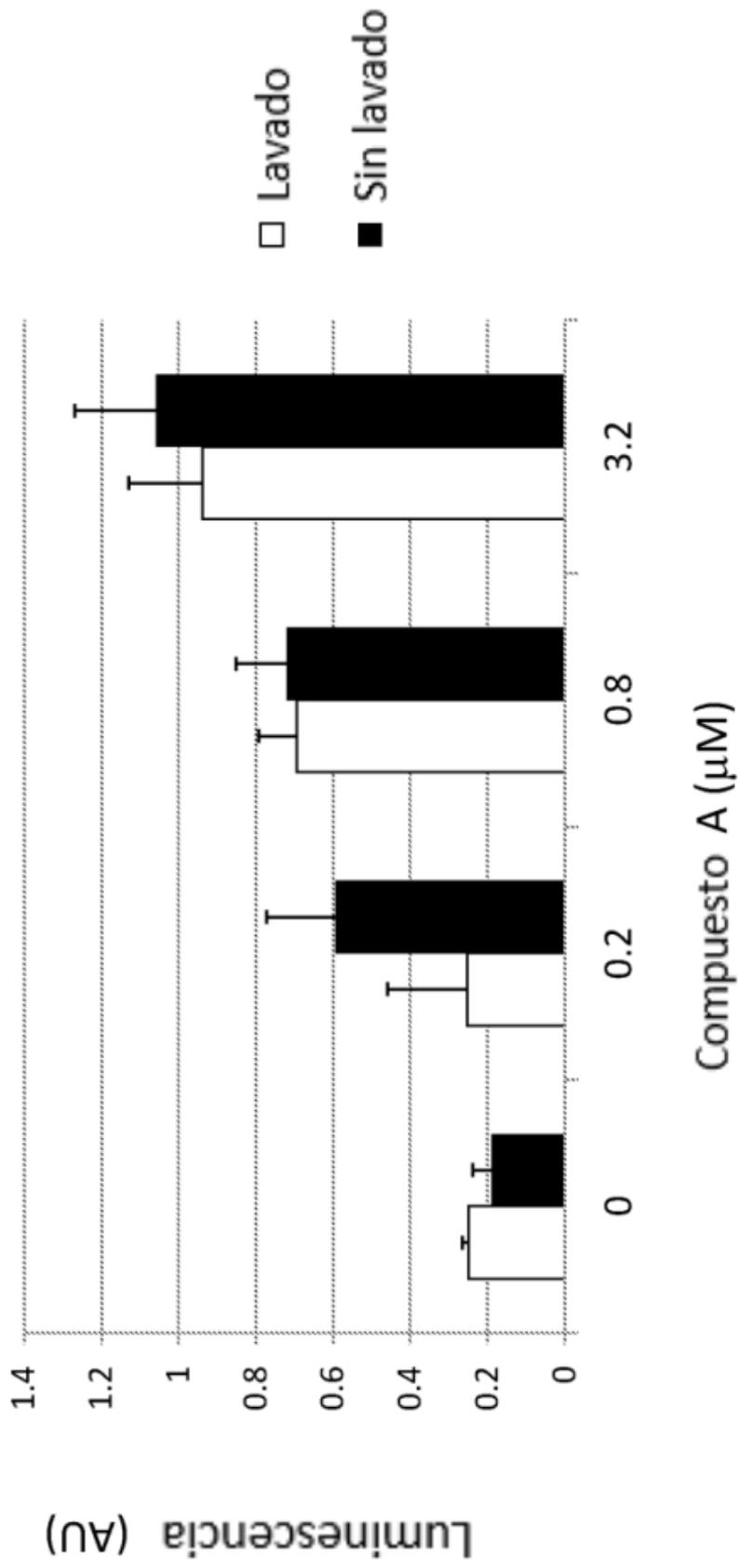


Figura 9A

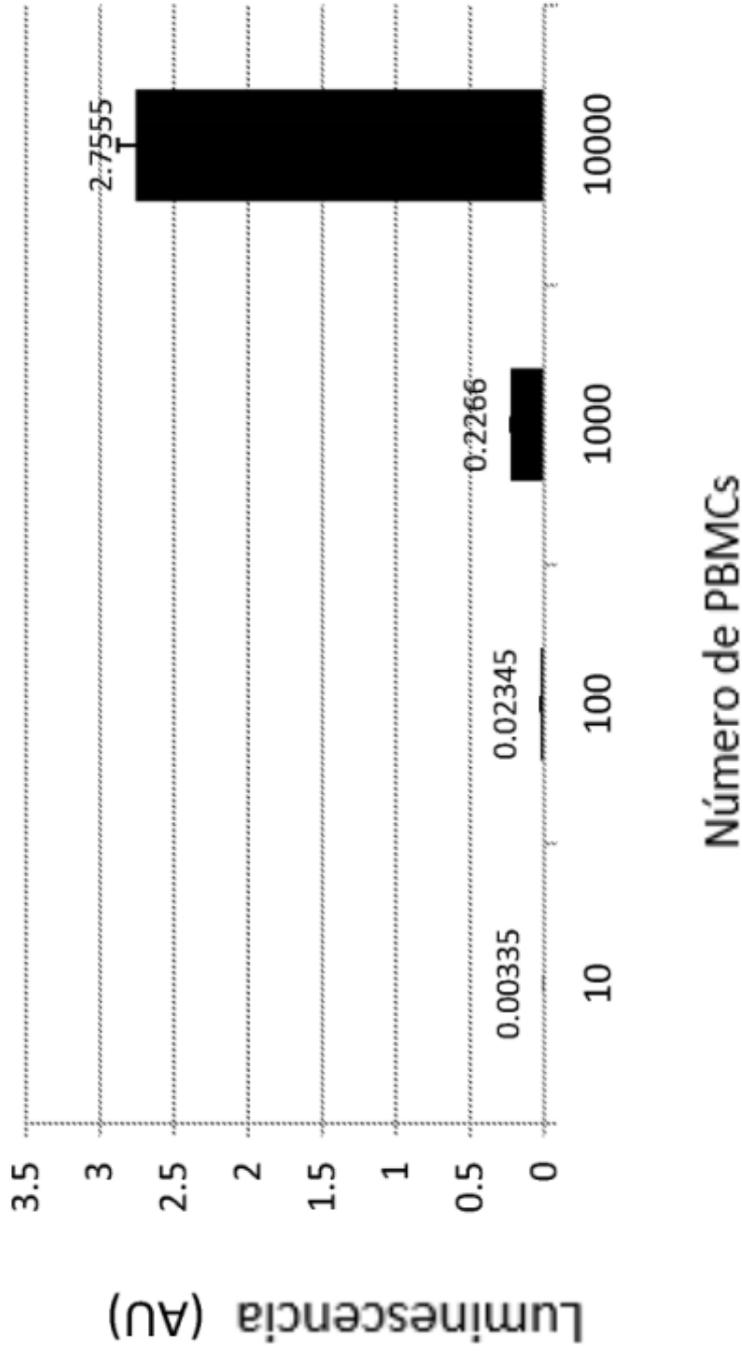


Figura 9B

Tratamiento	Recurrencia tumoral (Días después del fin de tratamiento)	
	Media	Des. Est.
Cetuximab (CTX)	8	±0
CTX + Afatinib	15	±2
CTX + Compuesto D	29	±9
CTX+Afatinib+Compuesto D	26	±7

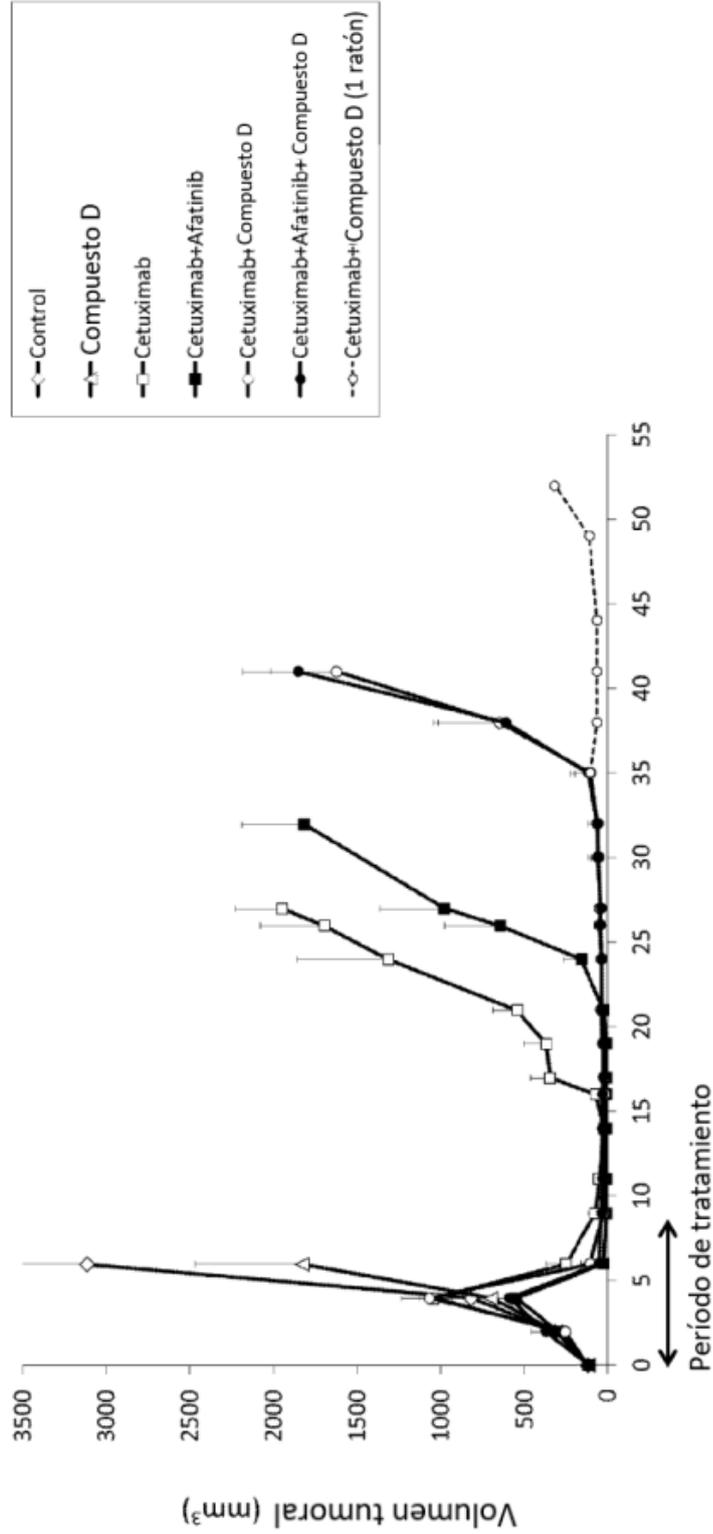


Figura 10

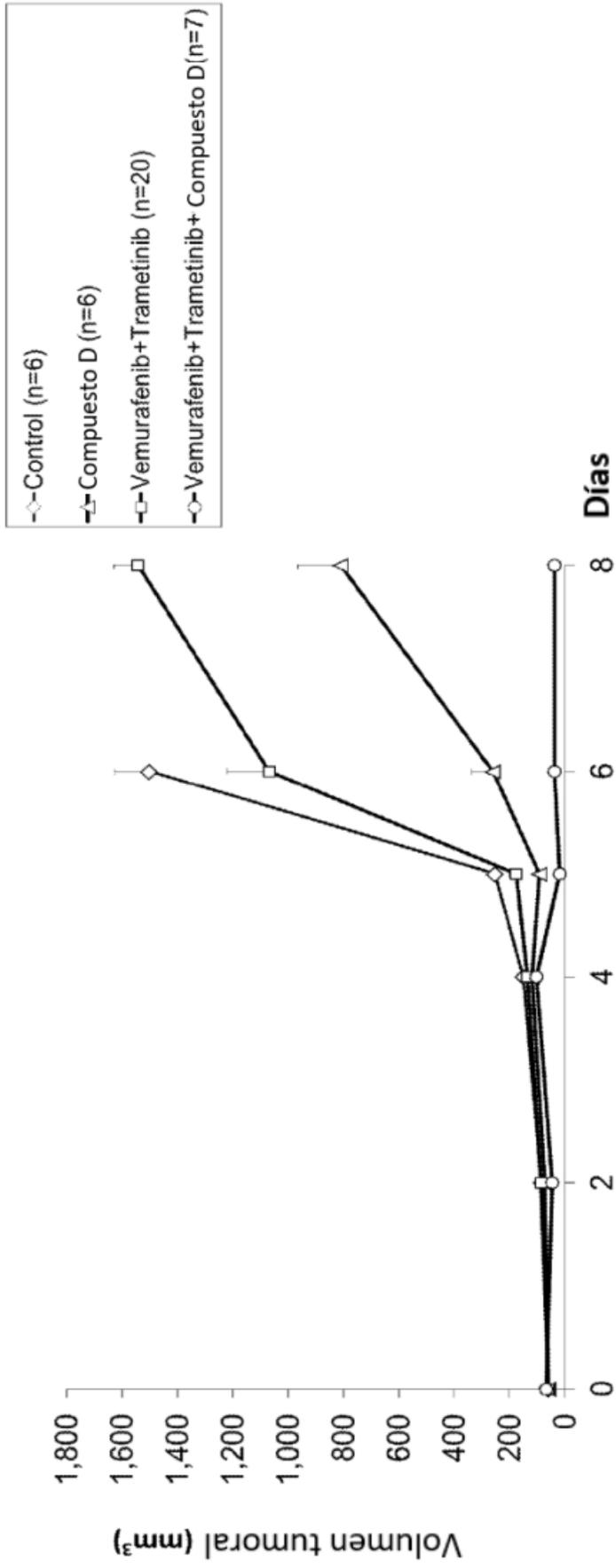


Figura 11

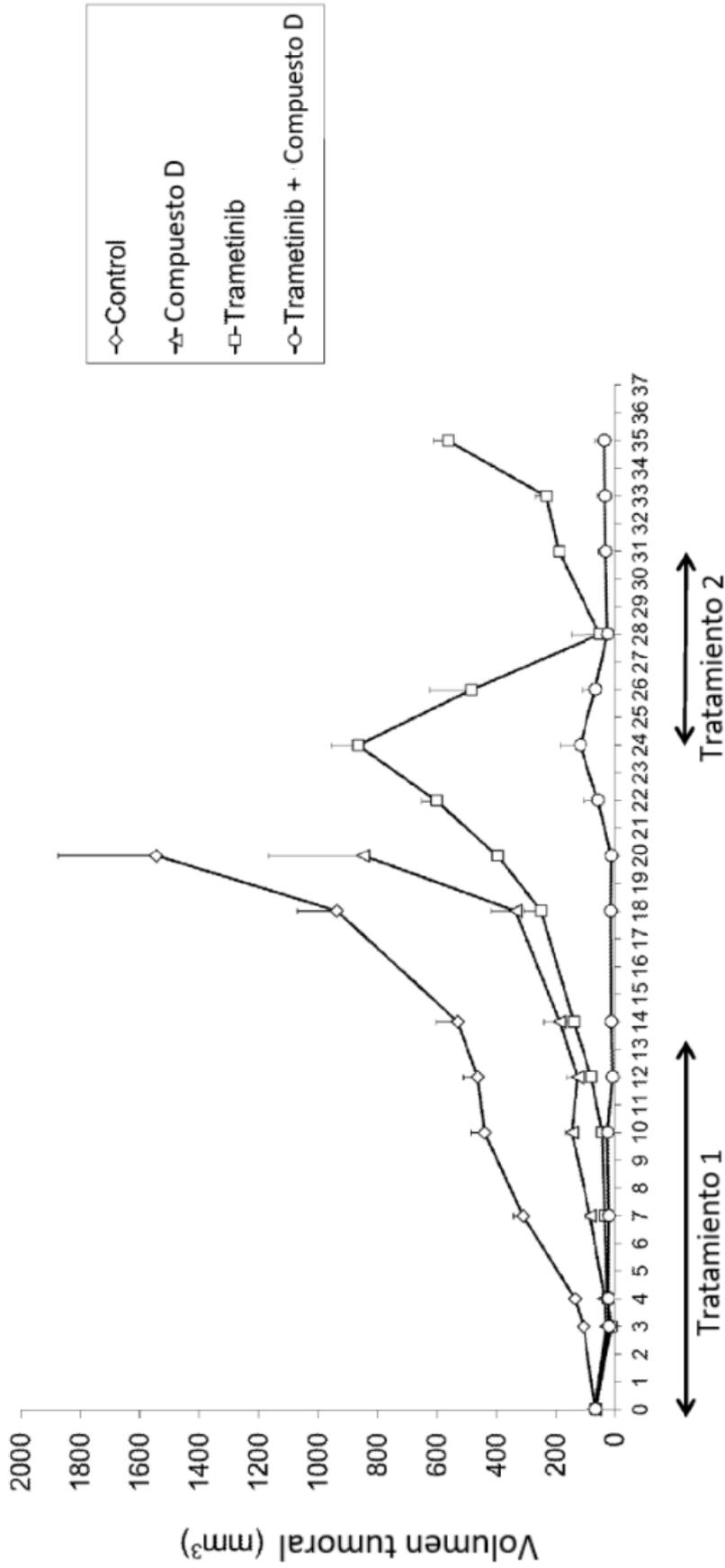


Figura 12

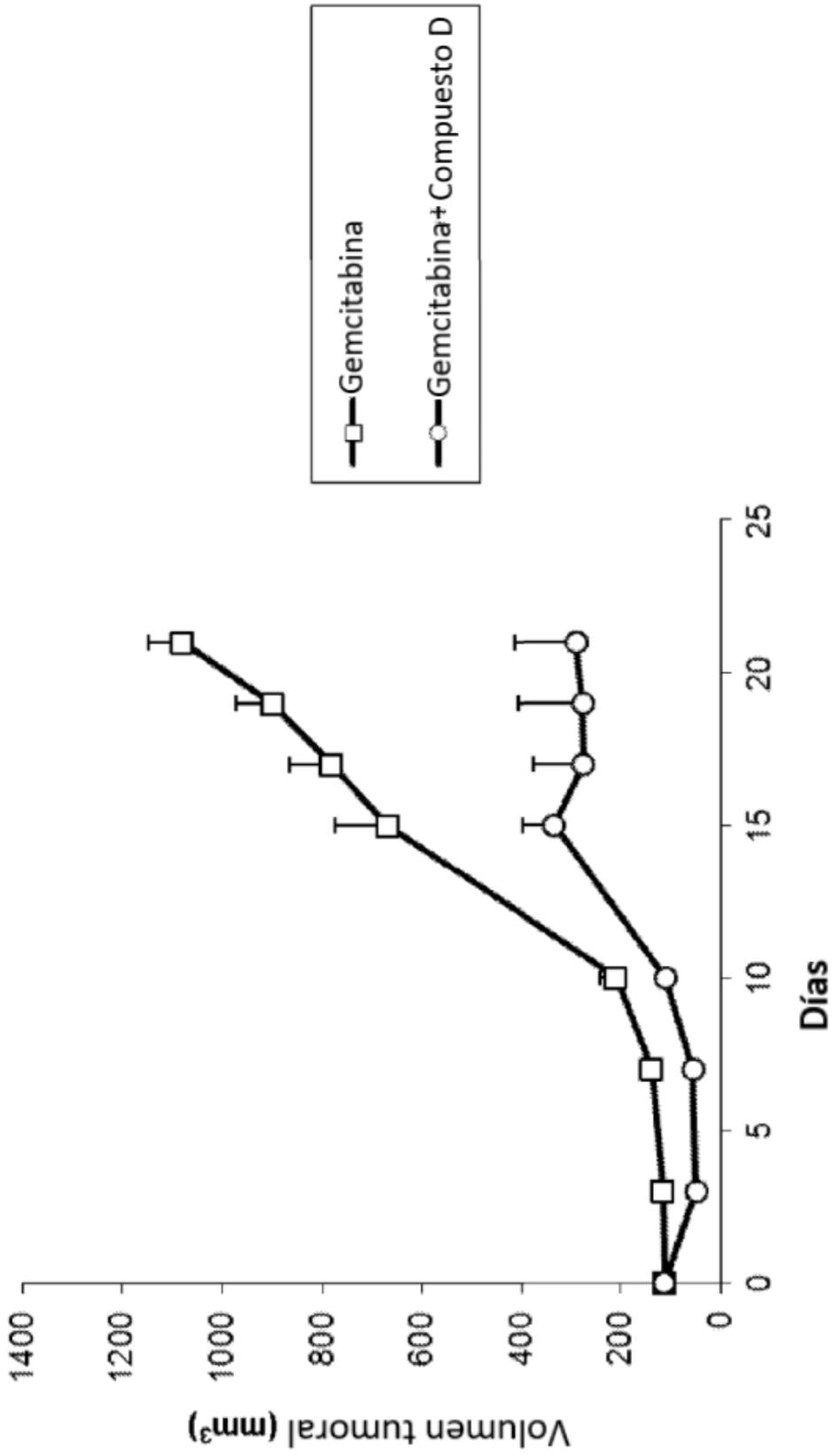


Figura 13A



Figura 13B

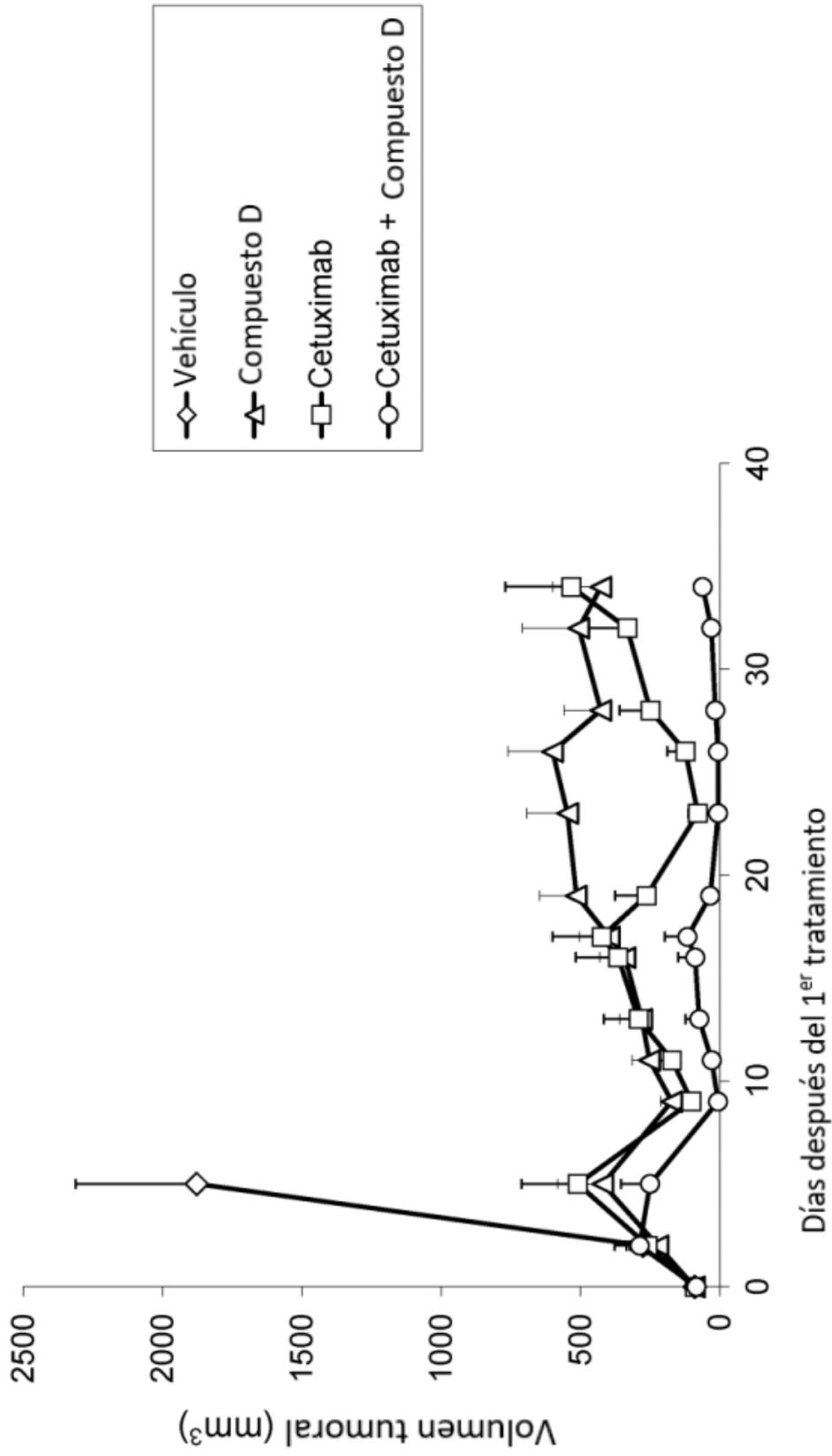


Figura 14

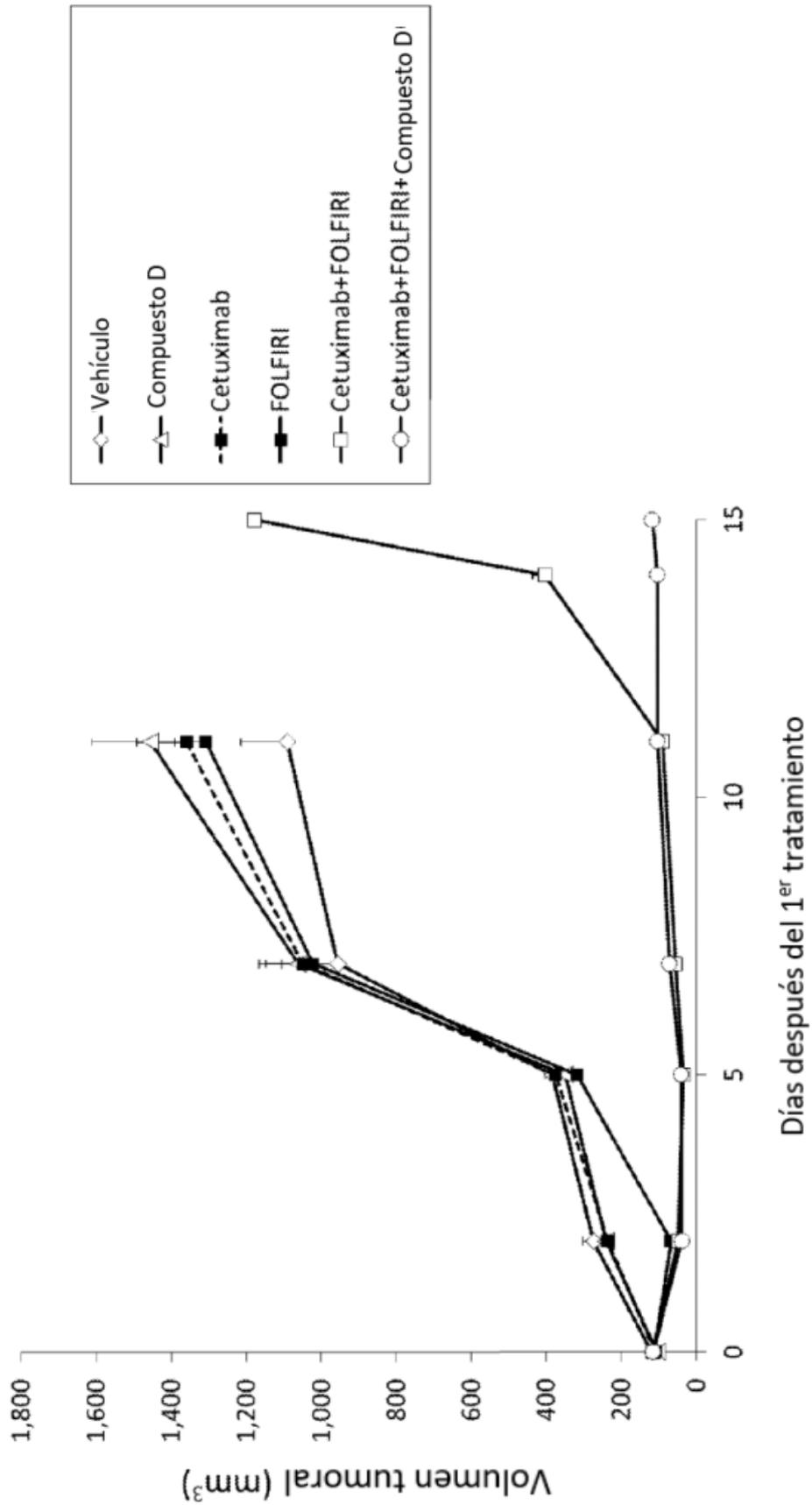


Figura 15