

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 951 653**

51 Int. Cl.:

A61K 31/122 (2006.01)
A61K 31/37 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/4738 (2006.01)
A61K 31/5415 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.04.2016** **PCT/IL2016/050439**
87 Fecha y número de publicación internacional: **03.11.2016** **WO16174674**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.04.2016** **E 16722951 (7)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023** **EP 3288547**

54 Título: **Moléculas dirigidas a EGR1 para el tratamiento de afecciones inflamatorias e hiperproliferativas**

30 Prioridad:

27.04.2015 US 201562153087 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.10.2023

73 Titular/es:

**THE MEDICAL RESEARCH, INFRASTRUCTURE,
AND HEALTH SERVICES FUND OF THE TEL AVIV
MEDICAL CENTER (100.0%)
6 Weizmann Street
6423906 Tel-Aviv, IL**

72 Inventor/es:

**SARIG, OFER y
SPRECHER, ELI**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

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

ES 2 951 653 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

Moléculas dirigidas a EGR1 para el tratamiento de afecciones inflamatorias e hiperproliferativas

5 La presente divulgación, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a terapia y, más particularmente, pero no exclusivamente, a fármacos dirigidos a EGR1 y al uso de los mismos para el tratamiento de afecciones inflamatorias e hiperproliferativas.

El estudio de trastornos monogénicos raros a menudo revela rutas biológicas hasta ahora desconocidas.

10 La calcinosis tumoral familiar (FTC) representa un grupo clínica y genéticamente heterogéneo de enfermedades hereditarias que se manifiestan con depósitos dérmicos y subcutáneos de materiales calcificados. Previamente se demostró que la variante normofosfatémica de FTC (NFTC) está provocada por mutaciones en el gen del dominio motivo alfa estéril 9 (SAMD9) que codifica una proteína de 170 kD [Chafetz, I. *et al.* (2008) J Invest Dermatol 128: 1423-9]. La NFTC se hereda de forma autosómica recesiva y se ha informado exclusivamente en judíos yemenitas.

15 Varias citocinas inflamatorias, incluyendo factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interferón-gamma (IFN- γ), regulan la expresión génica de SAMD9 [Chafetz, I. *et al.* 2008, citado anteriormente], lo que puede explicar el hecho de que en NFTC, la inflamación parece preceder a la calcificación ectópica de la piel.

20 Se estableció previamente que SAMD9 puede funcionar inhibiendo la expresión de EGR1 (proteína de respuesta de crecimiento temprano 1) [Hershkovitz, D. *et al.* (2011) J Invest Dermatol 131: 662-9]. El producto del gen EGR1 es un factor de transcripción con funciones en la diferenciación y el crecimiento. EGR1 también es un mediador importante de la inflamación y puede estar implicado en la patogénesis de la enfermedad de Crohn, donde SAMD9 está regulado negativamente, y de la esclerodermia, un trastorno notoriamente caracterizado por calcificación ectópica. Por otra

25 parte, el depósito tisular de fosfato cálcico se ha asociado con una mayor expresión de EGR1 [Molloy, E.S. y McCarthy, G.M. (2006) Curr Opin Rheumatol 18: 187-92]. EGR1 también se ha implicado en la patogenia cáncer de mama, de próstata y de pulmón y puede ser importante para la progresión metastásica debido a la activación de genes que controlan la contractilidad de la actina [Cermak, V. *et al.* (2010) Cell Mol Life Sci 67: 3557-68], una observación que está en línea con los datos que muestran la redistribución intracelular de los filamentos de actina después de la

30 regulación negativa de SAMD9 [Hershkovitz, D. *et al.* (2011), *supra*].

La solicitud de patente de EE.UU. con el N.º de publicación 20140011812 desvela métodos para disminuir la inflamación mediante la inhibición de la quinasa tipo polo (P1K) y menciona a EGR1 como un regulador transcripcional cuya expresión está asociada a la respuesta inmunitaria.

35 El documento WO 2006/002082 describe compuestos de carbazol tricíclicos utilizables en la modificación de la actividad de señalización y la actividad de angiogénesis en una célula.

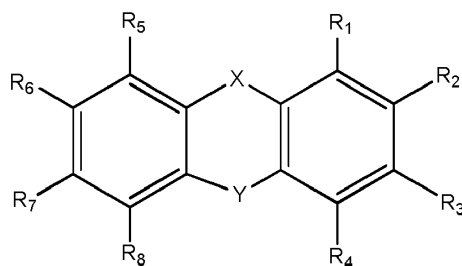
Los antecedentes de la técnica adicionales incluyen el documento WO 2014/011540 y la patente EP N.º 0502668.

40 Sumario de la invención

La invención se expone en el conjunto de reivindicaciones adjuntas.

45 De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona

un compuesto representado por la Fórmula I:



Fórmula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

55 X es N-R₉;
Y está ausente;
R₉ es hidrógeno o alquilo;

R₁-R₄ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo o, como alternativa o además, dos de R₁-R₄ y R₉ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico;

y
R₅-R₈ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo, en donde dos de R₅-R₈ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico,

para su uso en el tratamiento de la inflamación de la piel o un cáncer calcificado en un sujeto que lo necesite.

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación, la inflamación está asociada a una enfermedad inflamatoria crónica.

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación, la inflamación está asociada a una enfermedad inflamatoria aguda.

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación, la inflamación de la piel se selecciona del grupo que consiste en una dermatitis atópica, una dermatitis de contacto, una dermatitis herpetiforme, una dermatitis exfoliativa generalizada, una dermatitis seborreica, una psoriasis, una erupción por fármacos, un eritema multiforme, un eritema nodoso, un granuloma anular, una hiedra venenosa, un roble venenoso, una necrólisis epidérmica tóxica, un acné y una rosácea.

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación, el cáncer calcificado es una variante normofosfatémica de FTC (NFTC).

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente divulgación se proporciona un artículo de fabricación que comprende un compuesto representado por la Fórmula I y un agente quimioterapéutico, estando empaquetado en un material de embalaje e identificado en impresión, en o sobre el material de envasado, para su uso en el tratamiento de un cáncer calcificado.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente divulgación se proporciona un artículo de fabricación que comprende un compuesto representado por la Fórmula I y un agente antiinflamatorio, estando empaquetado en un material de embalaje e identificado en impresión, en o sobre el material de envasado, para su uso en el tratamiento de inflamación de la piel.

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación, el compuesto representado por la Fórmula I y el agente quimioterapéutico están en recipientes separados.

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación, el compuesto representado por la Fórmula I y el agente antiinflamatorio están en recipientes separados.

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación, el compuesto representado por la Fórmula I y el agente quimioterapéutico están en una co-formulación.

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación, el compuesto representado por la Fórmula I y el agente antiinflamatorio están en una co-formulación.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es 6H-Pirido[4,3-b]carbazol-1-carboxamida, 5,11-dimetil-monoclorhidrato.

Salvo que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y/o científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto habitual en la materia a la que pertenece la divulgación. Aunque en la práctica o el ensayo de realizaciones de la divulgación pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, a continuación se describen métodos y/o materiales ilustrativos. En caso de conflicto, la memoria descriptiva de la patente, incluyendo las definiciones, prevalecerá. Adicionalmente, los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no se pretende que sean necesariamente limitantes.

Breve descripción de las varias vistas de los dibujos

Algunos aspectos de la divulgación se describen en el presente documento, a modo de ejemplo únicamente, con referencia a los dibujos adjuntos. Con referencia específica ahora a los dibujos en detalle, se enfatiza que los detalles mostrados son a modo de ejemplo y con fines de análisis ilustrativo de las realizaciones de la divulgación. En este sentido, la descripción tomada junto con los dibujos hace evidente a los expertos en la materia cómo pueden ponerse en práctica realizaciones de la divulgación.

En los dibujos:

Las FIG. 1A-B ilustran la actividad promotora de *SAMD9* en células HeLa transfectadas. La FIG. 1A muestra células HeLa que se transfectaron transitoriamente con un vector de expresión pGL4.17 solo (PGL4 vacío) o pGL4.17 que contiene un fragmento del promotor de *SAMD9* que abarca 585 pb anteriormente al TSS y un vector de luciferasa de Renilla pRL. Veinticuatro horas después de la transfección, se añadieron 10 ng/ml de IFN- γ . Los datos de luciferasa obtenidos a las 48 horas después de la transfección se normalizaron frente a Renilla; La FIG. 1B muestra una línea celular HeLa que expresa de forma estable el vector de expresión pGL4.17 que contiene 585 pb del fragmento del promotor de *SAMD9* que se cultivó en presencia de 10 ng/ml de IFN- γ añadido durante 24 horas. Los datos de luciferasa se normalizaron después frente a Renilla.

La FIG. 1C ilustra la inducción de la expresión de *SAMD9* en células HeLa, fibroblastos transformados con TERC y fibroblastos primarios tratados con CaCx y ApDx. Los tres tipos de células se cultivaron en placas de 12 pocillos y se trataron con CaCx 5 μ M (columnas negras) y ApDx (columnas vacías) durante 24 horas por duplicado. La expresión de *SAMD9* se midió mediante qRT-PCR, por triplicado. Los resultados se expresan como factor de multiplicación en la expresión de ARN de *SAMD9* con respecto a las células de control tratadas con DMSO $\pm$ error estándar. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$.

Las FIG. 2A-B ilustran la inducción de la expresión de *SAMD9* en fibroblastos primarios tratados con CaCx y ApDx. Los fibroblastos primarios se cultivaron por duplicado en placas de 12 pocillos en presencia de 5 μ M de CaCx y ApDx (columnas vacías) o DMSO durante 72 horas (Figura 2A) o en presencia de DMSO o CaCx o ApDx 1 μ M, 2 μ M, 5 μ M y 10 μ M, respectivamente (Figura 2B). La expresión de *SAMD9* se midió mediante qRT-PCR, todas las muestras se ejecutaron por triplicado. Los resultados se expresan como expresión de ARN de *SAMD9* con respecto a los fibroblastos primarios de control tratados con DMSO $\pm$ error estándar. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$.

La FIG. 3 ilustra el efecto de CaCx y ApDx sobre la expresión de *EGR1* en fibroblastos primarios. Los fibroblastos primarios se cultivaron por duplicado en placas de 12 pocillos durante un período de 72 horas en presencia de DMSO, 5 μ M de CaCx (columnas negras) o ApDx (columnas vacías). Los resultados se expresan como expresión de ARN de *EGR1* con respecto al control tratado con DMSO $\pm$ error estándar, respectivamente * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$.

Las FIG. 4A-F ilustran un análisis histopatológico del efecto de CaCx y ApDx sobre la dermatitis psoriasiforme inducida por imiquimod en ratones. Tres grupos de ratones fueron tratados de la siguiente manera: el grupo 1 fue tratado 5 veces por semana por vía tópica con imiquimod y recibió inyección i.p. de DMSO (FIG. 4A y 4D); el grupo 2 fue tratado 5 veces por semana por vía tópica con imiquimod y recibió inyección i.p. de CaCx (FIG. 4B y 4E); el grupo 3 fue tratado 5 veces por semana por vía tópica con imiquimod y recibió inyección i.p. de ApDx (FIG. 4C y 4F). Se obtuvieron biopsias el día 6 y se tiñeron con H&E (paneles superiores) y Ki67 (paneles inferiores).

Las FIG. 5A-C ilustran la tinción con Ki67 y el grosor epidérmico después del tratamiento con CaCx y ApDx de la dermatitis psoriasiforme inducida por imiquimod. Doce ratones Balb/c fueron tratados con imiquimod al 5 % por vía tópica diariamente durante 5 días y se dividieron en tres grupos iguales que recibieron concomitantemente durante 5 días vehículo i.p. (DMSO y lipofusina al 10 %); CaCx 22,5 mg/kg/día o ApDx 7,5 mg/kg/día. La FIG. 5A muestra el grosor epidérmico medido en micrómetros (columnas negras) y el porcentaje de Ki67 positivo en la epidermis (columnas blancas); Las FIG. 5B-C, en paralelo, los niveles de ARN de *EGR1* (FIG. 5B) y los niveles de ARN de IL-33 (FIG. 5C) se midieron por triplicado mediante qRT-PCR. CaCx (columnas negras) y ApDx (columnas blancas). Los resultados se expresan como expresión de ARN de *EGR1* con respecto a los ratones de control tratados con el grupo tratado con vehículo $\pm$ error estándar. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$.

La FIG. 6 ilustra el efecto de CaCx y ApDx en ratones quiméricos que portan piel psoriásica humana. Seis semanas después del injerto de piel humana, se trataron los ratones quiméricos. Cuatro grupos de ratones fueron tratados de la siguiente manera: a un grupo de ratones se le inyectó i.p. cinco veces a la semana con el vehículo; a un segundo grupo de ratones se le inyectó ApDx cinco veces por semana (5 mg/kg); a un tercer grupo de ratones se le inyectó CaCx cinco veces por semana (15 mg/kg); y un cuarto grupo de ratones, fue tratado con crema de dexametasona (DEX) aplicada 5 veces por semana en el injerto, como control positivo (se esperaba que DEX atenuara la inflamación en este modelo). Cada grupo incluía cinco ratones y el tratamiento se realizó durante un total de 10 días. Los injertos se recolectaron de los cuatro grupos de ratones, se embebieron en parafina, se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E), se analizaron y se puntuaron puntuados para la mejora promedio del fenotipo psoriasiforme clínico e histológico. Los resultados representan la puntuación de mejora promedio para cada grupo de ratones $\pm$ SE (* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$).

Las FIG. 7A-F ilustran un análisis histopatológico del efecto de CaCx y ApDx en ratones quiméricos que portan piel psoriásica humana. Tres grupos de ratones fueron tratados de la siguiente manera: a un grupo de ratones se le inyectó i.p. cinco veces a la semana con el vehículo (FIG. 7A y 7D); a un segundo grupo de ratones se le inyectó ApDx cinco veces por semana (5 mg/kg) (FIG. 7C y 7F); a un tercer grupo de ratones se le inyectó CaCx cinco veces por semana (15 mg/kg) (FIG. 7B y 7E). Cada grupo incluía cinco ratones y el tratamiento se realizó durante un total de 10 días. Se obtuvieron biopsias el día 10 y se tiñeron con H&E (paneles superiores) y Ki67 (paneles inferiores).

La FIG. 8 ilustra la tinción con Ki67 y el grosor epidérmico en ratones quiméricos que portan piel psoriásica humana después del tratamiento con CaCx y ApDx. Los ratones fueron tratados como se describe en las Figuras 7A-F, anteriormente. Se muestra el grosor epidérmico medido en micrómetros (columnas negras) y el porcentaje de Ki67 positivo en la epidermis (columnas blancas).

La FIG. 9 ilustra los niveles de ARN de *EGR1* y de *SAMD9* en ratones quiméricos portadores de piel psoriásica humana después del tratamiento con CaCx. Los ratones fueron tratados como se describe en las Figuras 7A-F, anteriormente. Los niveles de ARN de *EGR1* (columnas negras) y de *SAMD9* (columnas blancas) se midieron por

triplicado mediante qRT-PCR. Los resultados se expresan como expresión de ARN de con respecto a los ratones de control tratados con el grupo tratado con vehículo $\pm$ error estándar. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$.

Descripción de realizaciones específicas de la invención

La presente divulgación, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a terapia y, más particularmente, pero no exclusivamente, a fármacos dirigidos a EGR1 y al uso de los mismos para el tratamiento de afecciones inflamatorias e hiperproliferativas.

Los principios y el funcionamiento de la presente divulgación pueden entenderse mejor en referencia a los dibujos y las descripciones adjuntos.

Antes de explicar al menos una realización de la divulgación en detalle, ha de comprenderse que la divulgación no está limitada necesariamente en su aplicación a los detalles expuestos en la siguiente descripción o ejemplificados mediante los Ejemplos. La divulgación es susceptible de otras realizaciones o de ponerse en práctica o de llevarse a cabo de diversas maneras. También, debe entenderse que la fraseología y la terminología empleadas en el presente documento son con fines descriptivos y no deberían interpretarse como limitantes.

Los tratamientos convencionales para la inflamación no curan fundamentalmente la inflamación y, a menudo, están dotados de efectos secundarios tales como reacciones de hipersensibilidad y deterioro del sistema inmunitario.

La psoriasis, una enfermedad inflamatoria crónica, afecta aproximadamente al 2-3 % de la población mundial. Hasta la fecha no existe una cura para la psoriasis.

Algunos de los presentes inventores han descubierto previamente que la pérdida de expresión o función de *SAMD9* conduce a inflamación y posterior calcinosis. *SAMD9* funciona regulando negativamente a la expresión de EGR1, un regulador crítico de las respuestas inflamatorias.

Al trasladar la presente divulgación a la práctica, los presentes inventores han descubierto a través de una laboriosa experimentación y selección una clase de moléculas pequeñas inductoras de la actividad transcripcional de *SAMD9*, que regulan negativamente EGR1 y, como tales, pueden usarse para el tratamiento de enfermedades inflamatorias e hiperproliferativas, incluyendo enfermedades de la piel, tales como psoriasis.

Como se describe en el presente documento y en la sección de Ejemplos que sigue, los presentes inventores generaron líneas celulares que expresan de manera estable un gen de luciferasa bajo la regulación de un promotor funcional de *SAMD9* y usaron estas células para la detección de más de 1400 moléculas pequeñas. Se demostró que aproximadamente 85 de las moléculas seleccionadas inducen la actividad de luciferasa dependiente de *SAMD9* en la selección inicial. Estas moléculas se probaron más a fondo para la inducción de la expresión de *SAMD9* y 31 compuestos ilustrativos que se encontraron activos en ambos ensayos se presentan en la Tabla 2 a continuación en el presente documento. Dos de estos compuestos ilustrativos, 6H-Pirido[4,3-b]carbazol-1-carboxamida, 5,11-dimetil monoclorhidrato (CaCx) y 10-n-propil-1,3-dicloro-7-amino-fenotiazina-5,5-dióxido (ApDx), se probaron más e indujeron de forma reproducible la actividad del promotor de *SAMD9* así como la expresión endógena de *SAMD9* en HeLa, fibroblastos transformados con TERC y células de fibroblastos primarios de una manera dependiente del tiempo y la dosis (Figuras 1C, 2A y 2B). Estos dos inductores de *SAMD9* regularon negativamente la expresión de *EGR1* (Figura 3). Los dos compuestos se evaluaron posteriormente en un modelo murino *in vivo* y se descubrió que revertían el fenotipo histopatológico epidérmico de la dermatitis psoriasiforme inducida por imiquimod (Figuras 4A-F y 5A-B). Por otra parte, se demostró que los dos compuestos atenúan el fenotipo psoriasiforme, medido por puntuación clínica y por examen histológico, en un modelo de ratón quimérico que lleva piel psoriásica humana (Figuras 6, 7A-F, 8 y 9).

Estos datos conducen a la comprensión de que los compuestos que exhiben características estructurales como se describe a continuación son útiles como fármacos dirigidos a EGR1 y en el tratamiento de enfermedades o trastornos inflamatorios e hiperproliferativos, como se describe con más detalle a continuación.

De acuerdo con un aspecto de la presente divulgación, se proporciona un compuesto representado por la Fórmula I, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas, para su uso en el tratamiento de la inflamación de la piel o un cáncer calcificado en un sujeto que lo necesite.

Como se usa en el presente documento, el término "tratar" se refiere a aliviar, atenuar, paliar o eliminar los síntomas de una inflamación o de una enfermedad hiperproliferativa, ralentizar, revertir o detener la progresión de la inflamación o la enfermedad hiperproliferativa o curar la inflamación o la enfermedad hiperproliferativa.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" o la expresión "sujeto que lo necesita" se refiere a un mamífero, preferentemente un ser humano, de sexo masculino o femenino, a cualquier edad que padezca la patología o esté en riesgo de desarrollar la patología.

De acuerdo con una realización, la patología es una inflamación o una enfermedad hiperproliferativa.

Inflamación

El término "inflamación" como se usa en el presente documento se refiere al término general para la acumulación local de fluidos, proteínas plasmáticas y glóbulos blancos iniciada por una lesión física, infección o una respuesta inmunitaria local. La inflamación puede estar asociada a varios signos, por ejemplo, enrojecimiento, dolor, calor, hinchazón y/o pérdida de función. La inflamación es un aspecto de muchas enfermedades y trastornos, incluyendo pero no limitado a enfermedades relacionadas con trastornos inmunitarios, infección vírica y bacteriana, artritis, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades del colágeno, alergia, asma, polinosis y atopia (como se describe con más detalle a continuación).

Por lo tanto, la inflamación puede estar provocada por una lesión, por ejemplo lesiones en la piel, músculo, los tendones o los nervios. La inflamación puede desencadenarse como parte de una respuesta inmunitaria, por ejemplo, respuesta autoinmunitaria patológica. La inflamación también puede desencadenarse por una infección, donde el reconocimiento de patógenos y el daño tisular pueden iniciar una respuesta inflamatoria en el sitio de la infección.

La inflamación de acuerdo con las presentes enseñanzas puede estar asociada a enfermedades o trastornos inflamatorios crónicos (a largo plazo) o enfermedades o trastornos inflamatorios agudos (a corto plazo).

De acuerdo con la presente divulgación, la inflamación está asociada a una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en una enfermedad infecciosa, una enfermedad autoinmunitaria, una inflamación asociada a hipersensibilidad, un rechazo del injerto y una lesión.

De acuerdo con una realización específica, la inflamación comprende una inflamación de la piel.

De acuerdo con una realización específica, la inflamación de la piel es psoriasis.

Las enfermedades caracterizadas por inflamación de la piel, incluyen pero no se limitan a dermatitis, dermatitis atópica (eccema, atopia), dermatitis de contacto, dermatitis herpetiforme, dermatitis exfoliativa generalizada, dermatitis seborreica, erupciones por fármacos, eritema multiforme, eritema nodoso, granuloma anular, hiedra venenosa, roble venenoso, necrólisis epidérmica tóxica, rosácea, psoriasis y acné. La inflamación también puede resultar de lesiones físicas en la piel.

La inflamación puede desencadenarse por diversos tipos de lesiones en los músculos, los tendones o los nervios. Por lo tanto, por ejemplo, la inflamación puede estar provocada por movimientos repetitivos de una parte del cuerpo, es decir, lesión por esfuerzo repetitivo (RSI). Las enfermedades caracterizadas por la inflamación desencadenada por RSI incluyen, pero no se limitan a, bursitis, síndrome del túnel carpiano, contractura de Dupuytren, epicondilitis (por ejemplo, codo de tenista), ganglio (es decir, inflamación en un quiste que se ha formado en la vaina del tendón, produciéndose habitualmente en la muñeca), síndrome del manguito rotador, tendinitis (por ejemplo, inflamación del tendón de Aquiles), tenosinovitis y dedo en gatillo (inflamación de las vainas de los tendones de los dedos o del pulgar acompañada de inflamación del tendón).

Muchas enfermedades relacionadas con enfermedades infecciosas incluyen respuestas inflamatorias, donde las respuestas inflamatorias son normalmente parte del sistema inmunológico innato desencadenado por el patógeno invasor. La inflamación también puede desencadenarse por una lesión física (mecánica) de las células y los tejidos como resultado de la infección. Los ejemplos de enfermedades infecciosas incluyen, pero no se limitan a, enfermedades infecciosas crónicas, enfermedades infecciosas subagudas, enfermedades infecciosas agudas, enfermedades víricas, enfermedades bacterianas, enfermedades por protozoos, enfermedades parasitarias, enfermedades fúngicas, enfermedades por micoplasma y enfermedades por priones. De acuerdo con una realización, los ejemplos de infecciones caracterizadas por inflamación incluyen, pero no se limitan a, encefalitis; meningitis; encefalomielitis; gastroenteritis vírica; hepatitis vírica.

Adicionalmente, muchos trastornos inmunitarios incluyen inflamación aguda o crónica. Por ejemplo, la artritis se considera un trastorno inmunitario caracterizado por la inflamación de las articulaciones, pero la artritis también se considera un trastorno inflamatorio caracterizado por un ataque inmunitario sobre los tejidos articulares.

La inflamación de acuerdo con las presentes enseñanzas puede estar asociada a una respuesta inmunitaria deficiente (por ejemplo, VIH, SIDA) o con una respuesta inmunitaria hiperactiva (por ejemplo, alergia, trastornos autoinmunitarios). Por lo tanto, la inflamación de acuerdo con las presentes enseñanzas puede estar asociada a cualquiera de los siguientes:

Enfermedades inflamatorias asociadas a hipersensibilidad:

Los ejemplos de hipersensibilidad incluyen, pero no se limitan a, hipersensibilidad de tipo I, hipersensibilidad de tipo II, hipersensibilidad de tipo III, hipersensibilidad de tipo IV, hipersensibilidad inmediata, hipersensibilidad mediada por anticuerpos, hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos, hipersensibilidad mediada por linfocitos T y DTH.

Hipersensibilidad inmediata o de tipo I, tal como asma.

La hipersensibilidad de tipo II incluye, pero no se limitan a, enfermedades reumáticas, enfermedades reumáticas autoinmunitarias, artritis reumatoide (Krenn V. *et al.*, *Histol Histopathol* 2000 Jul;15 (3):791), espondilitis, espondilitis anquilosante (Jan Voswinkel *et al.*, *Arthritis Res* 2001; 3 (3): 189), enfermedades sistémicas, enfermedades sistémicas autoinmunitarias, lupus eritematoso sistémico (Erikson J. *et al.*, *Immunol Res* 1998;17 (1-2):49), esclerosis, esclerosis sistémica (Renaudineau Y. *et al.*, *Clin Diagn Lab Immunol.* marzo de 1999;6-2): 156); Chan OT. *et al.*, *Immunol Rev* 1999 Jun;169:107), enfermedades glandulares, enfermedades glandulares autoinmunitarias, enfermedades pancreáticas autoinmunitarias, diabetes, diabetes tipo I (Zimmet P. *Diabetes Res Clin Pract* 1996 Oct;34 Suppl:S125), enfermedades tiroideas, enfermedades tiroideas autoinmunitarias, enfermedad de Graves (Orgiazzi J. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2000 Jun;29 (2):339), tiroiditis, tiroiditis autoinmunitaria espontánea (Braley-Mullen H. y Yu S, *J Immunol* 15 de diciembre de 2000;165 (12):7262), Tiroiditis de Hashimoto (Toyoda N. *et al.*, *Nippon Rinsho* 1999 Aug;57 (8):1810), mixedema, mixedema idiopático (Mitsuma T. *Nippon Rinsho.* agosto de 1999;57 (8):1759); enfermedades reproductivas autoinmunitarias, enfermedades ováricas, autoinmunidad ovárica (Garza KM. *et al.*, *J Reprod Immunol* febrero de 1998;37 (2):87), infertilidad autoinmunitaria anti-espermatozoides (Diekman AB. *et al.*, *Am J Reprod Immunol.* marzo de 2000;43 (3):134), pérdida fetal repetida (Tincani A. *et al.*, *Lupus* 1998;7 Supl 2:S107-9), enfermedades neurodegenerativas, enfermedades neurológicas, enfermedades neurológicas autoinmunitarias, esclerosis múltiple (Cross AH. *et al.*, *J Neuroimmunol* 1 de enero de 2001;112 (1-2):1), enfermedad de Alzheimer (Oron L. *et al.*, *J Neural Transm Suppl.* 1997;49:77), miastenia grave (Infante AJ. y Kraig E, *Int Rev Immunol* 1999; 18 (1-2):83), neuropatías motoras (Komborg AJ. *J Clin Neurosci.* mayo de 2000;7 (3):191), Síndrome de Guillain-Barre, neuropatías y neuropatías autoinmunitarias (Kusunoki S. *Am J Med Sci.* abril de 2000;319 (4):234), enfermedades miasténicas, síndrome miasténico de Lambert-Eaton (Takamori M. *Am J Med Sci.* abril de 2000;319 (4):204), enfermedades neurológicas paraneoplásicas, atrofia cerebelosa, atrofia cerebelosa paraneoplásica, síndrome de la persona rígida no paraneoplásico, atrofia cerebelosas, atrofia cerebelosas progresivas, encefalitis, encefalitis de Rasmussen, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Sydeham, síndrome de Gilles de la Tourette, poliendocrinopatías, poliendocrinopatías autoinmunitarias (Antoine JC. y Honnorat J. *Rev Neurol (París)* enero de 2000;156 (1):23); neuropatías, neuropatías disimunitarias (Nobile-Orazio E. *et al.*, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl.* 1999;50:419); neuromiotonía, neuromiotonía adquirida, artrogriposis múltiple congénita (Vincent A. *et al.*, *Ann NY Acad Sci.* 13 de mayo de 1998;841:482), enfermedades cardiovasculares, enfermedades cardiovasculares autoinmunitarias, aterosclerosis (Matsuura E. *et al.*, *Lupus.* 1998;7 Supl. 2:S135), infarto de miocardio (Vaarala O. *Lupus.* 1998; 7 Supl 2: S132), trombosis (Tincani A. *et al.*, *Lupus* 1998; 7 Supl 2: S107-9), granulomatosis, granulomatosis de Wegener, arteritis, arteritis de Takayasu y síndrome de Kawasaki (Praprotnik S. *et al.*, *Wien Klin Wochenschr* 25 de agosto de 2000;112 (15-16):660); enfermedad autoinmunitaria anti-factor VIII (Lacroix-Desmazes S. *et al.*, *Semin Thromb Hemost.* 2000;26 (2):157); vasculitis, vasculitis necrosante de vasos pequeños, poliangeitis microscópica, síndrome de Churg y Strauss, glomerulonefritis, glomerulonefritis necrosante focal pauci-inmunitaria, glomerulonefritis con semilunas (Noel LH. *Ann Med Interne (París).* Mayo de 2000; 151 (3): 178); síndrome antifosfolípido (Flamholz R. *et al.*, *J Clin Apheresis* 1999;14 (4):171); insuficiencia cardíaca, anticuerpos adrenérgicos β de tipo agonista en la insuficiencia cardíaca (Wallukat G. *et al.*, *Am J Cardiol.* 17 de junio de 1999;83 (12A):75H), púrpura trombocitopénica (Moccia F. *Ann Ital Med Int.* abril-junio de 1999;14 (2):114); anemia hemolítica, anemia hemolítica autoinmunitaria (Efremov DG. *et al.*, *Leuk Lymphoma* enero de 1998;28 (3-4):285), enfermedades gastrointestinales, enfermedades autoinmunitarias del tracto gastrointestinal, enfermedades intestinales, enfermedad intestinal inflamatoria crónica (García Herola A. *et al.*, *Gastroenterol Hepatol.* 23 de enero de 2000 (1):16), enfermedad celíaca (Landau YE. y Shoenfeld Y. *Harefuah* 16 de enero 2000; 138 (2):122), enfermedades autoinmunitarias de la musculatura, miositis, miositis autoinmunitaria, síndrome de Sjogren (Feist E. *et al.*, *Int Arch Allergy Immunol* septiembre de 2000;123 (1):92); enfermedad autoinmunitaria del músculo liso (Zauli D. *et al.*, *Biomed Pharmacother* junio de 1999;53 (5-6):234), enfermedades hepáticas, enfermedades hepáticas autoinmunitarias, hepatitis autoinmunitaria (Manns MP. *J Hepatol* agosto de 2000;33 (2):326) y cirrosis biliar primaria (Strassburg CP. *et al.*, *Eur J Gastroenterol Hepatol.* junio de 1999;11 (6):595).

La hipersensibilidad mediada por linfocitos T o de tipo IV, incluyen, pero no se limitan a, enfermedades reumáticas, artritis reumatoide (Tisch R, McDevitt HO. *Proc Natl Acad Sci EE.UU.* 18 de enero de 1994;91 (2):437), enfermedades sistémicas, enfermedades sistémicas autoinmunitarias, lupus eritematoso sistémico (Datta SK., *Lupus* 1998; 7 (9):591), enfermedades glandulares, enfermedades glandulares autoinmunitarias, enfermedades pancreáticas, enfermedades pancreáticas autoinmunitarias, diabetes de tipo 1 (Castano L. y Eisenbarth GS. *Ann. Rev. Immunol.* 8:647); enfermedades tiroideas, enfermedades tiroideas autoinmunitarias, enfermedad de Graves (Sakata S. *et al.*, *Mol Cell Endocrinol* marzo de 1993;92 (1):77); enfermedades de los ovarios (Garza KM. *et al.*, *J Reprod Immunol* febrero de 1998;37 (2):87), prostatitis, prostatitis autoinmunitaria (Alexander RB. *et al.*, *Urology* diciembre de 1997;50 (6):893), síndrome poliglandular, síndrome poliglandular autoinmunitario, síndrome poliglandular autoinmunitario de tipo I (Hara T. *et al.*, *Blood.* 1 de marzo de 1991;77 (5):1127), enfermedades neurológicas, enfermedades autoinmunitarias neurológicas, esclerosis múltiple, neuritis, neuritis óptica (Soderstrom M. *et al.*, *J Neurol Neurosurg Psychiatry* mayo de 1994;57 (5):544), miastenia grave (Oshima M. *et al.*, *Eur J Immunol* diciembre de 1990;20 (12):2563), síndrome del hombre rígido (Hiemstra HS. *et al.*, *Proc Natl Acad Sci EE.UU.* 27 de marzo de 2001;98 (7):3988), enfermedades cardiovasculares, autoinmunidad cardíaca en la enfermedad de Chagas (Cunha-Neto E. *et al.*, *J Clin Invest* 15 de octubre de 1996;98 (8):1709), púrpura trombocitopénica autoinmunitaria (Semple JW. *et al.*, *Blood* 15 de mayo de 1996;87 (10):4245), autoinmunidad de anti-linfocitos T auxiliares (Caporossi AP. *et al.*, *Viral*

Immunol 1998;11 (1):9), anemia hemolítica (Sallah S. *et al.*, Ann Hematol marzo de 1997;74 (3):139), enfermedades hepáticas, enfermedades hepáticas autoinmunitarias, hepatitis, hepatitis activa crónica (Franco A. *et al.*, Clin Immunol Immunopathol marzo de 1990;54 (3):382), cirrosis biliar, cirrosis biliar primaria (Jones DE. Clin Sci (Colch) noviembre de 1996;91 (5):551), enfermedades nefríticas, enfermedades nefríticas autoinmunitarias, nefritis, nefritis intersticial (Kelly CJ. J Am Soc Nephrol agosto de 1990;1 (2):140), enfermedades del tejido conectivo, enfermedades del oído, enfermedades autoinmunitarias del tejido conjuntivo, enfermedad autoinmunitaria del oído (Yoo TJ. *et al.*, Cell Immunol agosto de 1994;157 (1):249), enfermedad del oído interno (Gloddek B. *et al.*, Ann N Y Acad Sci 29 de diciembre de 1997;830:266), enfermedades de la piel, enfermedades cutáneas, enfermedades dérmicas, dermatosis ampulosas, pénfigo vulgar, penfigoide ampuloso y pénfigo foliáceo.

Los ejemplos de hipersensibilidad de tipo retardada incluyen, pero no se limitan a, dermatitis de contacto y erupción asociada a fármacos.

Los ejemplos de tipos de hipersensibilidad mediada por linfocitos T incluyen, pero no se limitan a, linfocitos T auxiliares y linfocitos T citotóxicos.

Los ejemplos de hipersensibilidad mediada por linfocitos T auxiliares incluyen, pero no se limitan a, hipersensibilidad mediada por linfocitos T_H1 e hipersensibilidad mediada por linfocitos T_H2.

Enfermedades autoinmunitarias:

Las enfermedades autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedades cardiovasculares, enfermedades reumáticas, enfermedades glandulares, gastroenteropatías, enfermedades cutáneas, enfermedades hepáticas, enfermedades neurológicas, enfermedades musculares, enfermedades nefríticas, enfermedades relacionadas con la reproducción, enfermedades del tejido conjuntivo y enfermedades sistémicas.

Los ejemplos de enfermedades cardiovasculares autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a aterosclerosis (Matsuura E. *et al.*, Lupus. 1998;7 Supl. 2:S135), infarto de miocardio (Vaarala O. Lupus. 1998; 7 Supl 2: S132), trombosis (Tincani A. *et al.*, Lupus 1998; 7 Supl 2: S107-9), granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu, síndrome de Kawasaki (Praprotnik S. *et al.*, Wien Klin Wochenschr 25 de agosto de 2000;112 (15-16):660), enfermedad autoinmunitaria anti-factor VIII (Lacroix-Desmazes S. *et al.*, Semin Thromb Hemost.2000;26 (2):157), vasculitis necrosante de vasos pequeños, poliangeitis microscópica, síndrome de Churg y Strauss, glomerulonefritis necrosante focal pauci-inmunitaria y con semilunas (Noel LH. Ann Med Interne (Paris). mayo de 2000; 151 (3):178), síndrome antifosfolípido (Flamholz R. *et al.*, J Clin Apheresis 1999;14 (4):171), insuficiencia cardíaca inducida por anticuerpos (Wallukat G. *et al.*, Am J Cardiol. 17 de junio de 1999;83 (12A):75H), púrpura trombocitopénica (Moccia F. Ann Ital Med Int. abril-junio de 1999;14 (2):114; Semple JW. *et al.*, Blood 15 de mayo de 1996;87 (10):4245), anemia hemolítica autoinmunitaria (Efremov DG. *et al.*, Leuk Lymphoma enero de 1998;28 (3-4):285; Sallah S. *et al.*, Ann Hematol marzo de 1997;74 (3):139), autoinmunidad cardíaca en la enfermedad de Chagas (Cunha-Neto E. *et al.*, J Clin Invest 15 de octubre de 1996;98 (8):1709) y autoinmunidad anti-linfocitos T auxiliares (Caporossi AP. *et al.*, Viral Immunol 1998;11 (1):9).

Los ejemplos de enfermedades reumáticas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a artritis reumatoide (Krenn V. *et al.*, Histol Histopathol julio de 2000;15 (3):791; Tisch R, McDevitt HO. Proc Natl Acad Sci units S A 18 de enero de 1994;91 (2):437) y espondilitis anquilosante (Jan Voswinkel *et al.*, Arthritis Res 2001; 3 (3): 189).

Los ejemplos de enfermedades glandulares autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedad pancreática, diabetes de tipo I, enfermedad tiroidea, enfermedad de Graves, tiroiditis, tiroiditis autoinmunitaria espontánea, tiroiditis de Hashimoto, mixedema idiopático, autoinmunidad ovárica, infertilidad autoinmunitaria anti-espermatozoides, prostatitis autoinmunitaria y síndrome poliglandular autoinmunitario de tipo I. Las enfermedades incluyen, pero no se limitan a enfermedades autoinmunitarias del páncreas, diabetes de tipo 1 (Castano L. y Eisenbarth GS. Ann. Rev. Immunol. 8:647; Zimmet P. Diabetes Res Clin Pract octubre de 1996;34 Suppl:S125), enfermedades autoinmunitarias tiroideas, enfermedad de Graves (Orgiazzi J. Endocrinol Metab Clin North Am junio de 2000;29 (2): 339; Sakata S. *et al.*, Mol Cell Endocrinol marzo de 1993;92 (1):77), tiroiditis autoinmunitaria espontánea (Braley-Mullen H. y Yu S, J Immunol 15 de diciembre de 2000;165 (12):7262), tiroiditis de Hashimoto (Toyoda N. *et al.*, Nippon Rinsho, agosto de 1999;57 (8): 1810), mixedema idiopático (Mitsuma T. Nippon Rinsho. agosto de 1999;57 (8):1759), autoinmunidad ovárica (Garza KM. *et al.*, J Reprod Immunol febrero de 1998;37 (2):87), infertilidad autoinmunitaria anti-espermatozoides (Diekman AB. *et al.*, Am J Reprod Immunol. marzo de 2000;43 (3):134), prostatitis autoinmunitaria (Alexander RB. *et al.*, Urology diciembre de 1997;50 (6):893) y síndrome poliglandular autoinmunitario de tipo I (Hara T. *et al.*, Blood. 1 de marzo de 1991;77 (5):1127).

Los ejemplos de enfermedades gastrointestinales autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedades intestinales inflamatorias crónicas (García Herola A. *et al.*, Gastroenterol Hepatol. enero de 2000;23 (1):16) enfermedad celíaca (Landau YE. y Shoenfeld Y. Harefuah 16 de enero de 2000;138 (2):122), colitis, ileítis y enfermedad de Crohn.

Los ejemplos de enfermedades cutáneas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedades cutáneas

ampollosas autoinmunitarias, tales como, pero no se limitan a, pénfigo vulgar, penfigoide ampolloso y pénfigo foliáceo.

Los ejemplos de enfermedades hepáticas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, hepatitis, hepatitis activa crónica autoinmunitaria (Franco A. *et al.*, Clin Immunol Immunopathol marzo de 1990;54 (3):382), cirrosis biliar primaria (Jones DE. Clin Sci (Colch) noviembre de 1996;91 (5):551; Strassburg CP. *et al.*, Eur J Gastroenterol Hepatol. junio de 1999;11 (6):595) y hepatitis autoinmunitaria (Manns MP. J Hepatol agosto de 2000;33 (2):326).

Los ejemplos de enfermedades neurológicas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, esclerosis múltiple (Cross AH. *et al.*, JNeuroimmunol 1 de enero de 2001; 112 (1-2): 1), enfermedad de Alzheimer (Oron L. *et al.*, J Neural Transm Suppl. 1997;49:77), miastenia grave (Infante AJ. y Kraig E, Int Rev Immunol 1999;18 (1-2):83; Oshima M. *et al.*, Eur J Immunol diciembre de 1990;20 (12):2563), neuropatías, neuropatías motoras (Kornberg AJ. J Clin Neurosci. mayo de 2000; 7 (3): 191); síndrome de Guillain-Barre y neuropatías autoinmunitarias (Kusunoki S. Am J Med Sci. abril de 2000;319 (4):234), miastenia, síndrome miasténico de Lambert-Eaton (Takamori M. Am J Med Sci. abril de 2000;319 (4):204); enfermedades neurológicas paraneoplásicas, atrofia cerebelosa, atrofia cerebelosa paraneoplásica y síndrome del hombre rígido (Hiemstra HS. *et al.*, Proc Natl Acad Sci units S A 27 de marzo DE 2001;98 (7):3988); síndrome de la persona rígida no paraneoplásico, atrofas cerebelosas progresivas, encefalitis, encefalitis de Rasmussen, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Sydeham, síndrome de Gilles de la Tourette y poliendocrinopatías autoinmunitarias (Antoine JC. y Honnorat J. Rev Neurol (París) enero de 2000;156 (1):23); neuropatías disimunitarias (Nobile-Orazio E. *et al.*, Electroencephalogr Clin Neurophysiol Supl. 1999;50:419); neuromiotonía adquirida, artrogriposis múltiple congénita (Vincent A. *et al.*, Ann NY Acad Sci. 13 de mayo de 1998;841:482), neuritis, neuritis óptica (Soderstrom M. *et al.*, J Neurol Neurosurg Psychiatry mayo de 1994;57 (5):544) y enfermedades neurodegenerativas.

Los ejemplos de enfermedades musculares autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, miositis, miositis autoinmunitaria y síndrome de Sjogren primario (Feist E. *et al.*, Int Arch Allergy Immunol septiembre de 2000;123 (1):92) y enfermedad autoinmunitaria del músculo liso (Zauli D. *et al.*, Biomed Pharmacother junio de 1999;53 (5-6):234).

Los ejemplos de enfermedades nefríticas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, nefritis y nefritis intersticial autoinmunitaria (Kelly CJ. J Am Soc Nephrol, agosto de 1990;1 (2):140).

Los ejemplos de enfermedades autoinmunitarias relacionadas con la reproducción incluyen, pero no se limitan a, pérdida fetal repetida (Tincani A. *et al.*, Lupus 1998; 7 Supl 2: S107-9).

Los ejemplos de enfermedades del tejido conjuntivo autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedades del oído, enfermedades autoinmunitarias del oído (Yoo TJ. *et al.*, Cell Immunol agosto de 1994;157 (1):249) y enfermedades autoinmunitarias del oído interno (Gloddek B. *et al.*, Ann N Y Acad Sci 29 de diciembre de 1997;830:266).

Los ejemplos de enfermedades sistémicas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, lupus eritematoso sistémico (Erikson J. *et al.*, Immunol Res 1998;17 (1-2):49) y esclerosis sistémica (Renaudineau Y. *et al.*, Clin Diagn Lab Immunol. marzo de 1999;6-2): 156); Chan OT. *et al.*, Immunol Rev junio de 1999;169:107).

De acuerdo con una realización, la enfermedad autoinmunitaria es enfermedad de Crohn, psoriasis, esclerodermia o artritis reumatoide.

Enfermedades de rechazo de injerto:

Los ejemplos de enfermedades asociadas al trasplante de un injerto incluyen, pero no se limitan a, rechazo de injerto, rechazo crónico de injerto, rechazo subagudo de injerto, rechazo hiperagudo de injerto, rechazo agudo de injerto y enfermedad de injerto contra hospedador.

Enfermedades alérgicas:

Los ejemplos de enfermedades alérgicas incluyen, pero no se limitan a, asma, urticarias, urticaria, alergia al polen, alergia a los ácaros del polvo, alergia al veneno, alergia a los cosméticos, alergia al látex, alergia química, alergia a fármacos, alergia a las picaduras de insectos, alergia a la caspa animal, alergia a las plantas urticantes, alergia a la hiedra venenosa y alergia alimentaria.

Enfermedades hiperproliferativas:

La expresión "enfermedad hiperproliferativa" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier afección que implique un crecimiento celular descontrolado, es decir, una tasa anormalmente alta de proliferación de células por división celular rápida.

La presente divulgación no se limita a un tipo particular de enfermedad o trastorno hiperproliferativo y puede incluir

tumores, cánceres, tejido neoplásico así como trastornos hiperproliferativos premalignos y no neoplásicos o no malignos.

De acuerdo con la presente divulgación, el trastorno hiperproliferativo es un cáncer que incluye, pero no limitado a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. El cáncer puede incluir tumores sólidos, metástasis así como tumores mixtos. Los ejemplos particulares de enfermedades cancerosas pero no se limitan a: fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de colon, carcinoma de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma epidermoide, carcinoma basocelular, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma de las vías biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer de cuello uterino, tumor testicular, cáncer de pulmón, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, cáncer de vejiga, leucemia (por ejemplo, leucemia mieloide tal como Leucemia mielógena crónica; Leucemia mielógena aguda con maduración; Leucemia promielocítica aguda; Leucemia no linfocítica aguda con aumento de basófilos; Leucemia monocítica aguda; Leucemia mielomonocítica aguda con eosinofilia), linfoma (por ejemplo, Linfoma neoplásico, tales como el no Hodgkin de Birkitt; Leucemia linfocítica, tal como Leucemia linfoblástica aguda; Leucemia linfocítica crónica), cáncer renal, cáncer uterino y cáncer de ovario.

Como se mencionó, las enseñanzas de la presente divulgación también contemplan el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas (por ejemplo, cáncer y psoriasis), que a menudo se asocian a la inflamación. De acuerdo con una realización, las enseñanzas de la presente divulgación contemplan el tratamiento del cáncer, por ejemplo, cáncer metastásico, también conocido como metástasis del cáncer.

De acuerdo con una realización, la enfermedad hiperproliferativa es un cáncer o tumor calcificado. El cáncer o tumor calcificado de acuerdo con una realización de la divulgación puede ser una variante normofosfatémica de la calcinosis tumoral familiar (NFTC).

Efecto sobre la actividad de *SAMD9* y *EGR1*:

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación, y sin desear quedar ligados a teoría alguna, se sugiere que los compuestos como se describen en el presente documento son eficaces en la activación de *SAMD9* para de esta manera regular negativamente la actividad de *EGR1*.

Como se usa en el presente documento, el término *SAMD9* se refiere al dominio motivo alfa estéril 9, por ejemplo, *SAMD9* de ser humano, por ejemplo, como se establece en los números de registro de GenBank. NM_017654.3 o NM_001193307.1 y NP_060124.2 o NP_001180236.1 (ARNm y proteína, respectivamente).

Por lo tanto, de acuerdo con una realización, los compuestos de las presentes realizaciones regulan positivamente la actividad o la expresión de *SAMD9* en aproximadamente un 10 %, un 20 %, un 30 %, un 40 %, un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 100 % o más, en comparación con la actividad o expresión del *SAMD9* en una célula del sujeto antes del tratamiento (o en una muestra correspondiente de otro sujeto que tenga la misma patología y preferentemente coincidente con la misma especie, por ejemplo, ser humano, edad, peso, sexo, etc. como el sujeto que lo necesita).

Como se usa en el presente documento, el término *EGR1* se refiere a la proteína de respuesta de crecimiento temprano 1 tal como la *EGR1* humana, por ejemplo, como se establece en los números de registro de GenBank. NM_001964.2 y NP_001955.1 (ARNm y proteína, respectivamente).

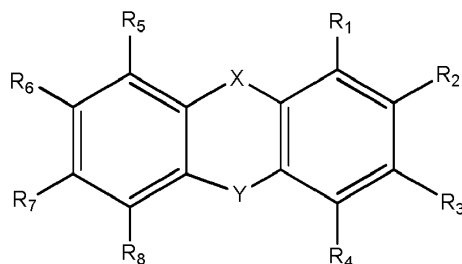
Por lo tanto, de acuerdo con una realización, los compuestos de la presente divulgación regulan negativamente una actividad o expresión de *EGR1* en aproximadamente un 10 %, un 20 %, un 30 %, un 40 %, un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 90 % o un 100 % en comparación con la actividad o expresión del *EGR1* en una célula del sujeto antes del tratamiento (o en una muestra correspondiente de otro sujeto que tenga la misma patología y preferentemente coincidente con la misma especie, por ejemplo, ser humano, edad, peso, sexo, etc. como el sujeto que lo necesita).

Los compuestos:

Los compuestos de las presentes realizaciones se denominan indistintamente a lo largo en el presente documento como "compuestos", "moléculas", "agentes terapéuticamente activos", "fármacos" o "fármacos dirigidos a *EGR1*".

Los compuestos descritos en el presente documento pueden representarse colectivamente por la Fórmula I, II o III, como se describe en el presente documento.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, los compuestos útiles en cualquiera de los usos descritos en el presente documento están representados colectivamente por la Fórmula I:



Fórmula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en el presente documento, en donde:

X es N-R₉;

Y está ausente;

R₁-R₈ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo o, como alternativa o además, dos de R₁-R₄ y R₉ y/o R₅-R₈ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico.

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, R₉ es hidrógeno (H).

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, R₉ es alquilo, tales como, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, etc.

De acuerdo con algunas realizaciones, R₁-R₄ son cada uno hidrógeno.

De acuerdo con algunas realizaciones, al menos uno de R₁-R₄ es un sustituyente (es decir, distinto de hidrógeno).

De acuerdo con algunas realizaciones, al menos uno de R₁-R₄ es halo, por ejemplo, cloro.

De acuerdo con algunas realizaciones, al menos dos de R₁-R₄ son independientemente un halo, por ejemplo, cloro.

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, cada uno de R₅-R₈ es hidrógeno. Un compuesto tal se denomina en el presente documento ApDx.

Como alternativa, uno o más de R₅-R₈ es un sustituyente (es decir, distinto de hidrógeno).

Además, como alternativa, para cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento para los compuestos de Fórmula I, dos de R₁-R₄ y R₉ y/o R₅-R₈ forman juntos un anillo cíclico.

En el presente documento, un "anillo cíclico" describe normalmente un anillo de 5 o miembros, opcionalmente sustituido. El anillo formado, por su definición, está condensado con uno o más de los anillos aromáticos y/o con el anillo intermedio entre ellos.

Dependiendo de los sustituyentes que forman el anillo, el anillo puede ser carbocíclico, concretamente, un anillo aromático (un arilo sustituido o no sustituido, como se define en el presente documento) o un anillo no aromático (un cicloalquilo sustituido o no sustituido, como se define en el presente documento), condensado opcionalmente con otro anillo, como se describe en el presente documento, o un anillo heterocíclico, concretamente, un heteroalíclico sustituido o no sustituido, como se define en el presente documento o un anillo heteroaromático (un heteroarilo sustituido o no sustituido, como se define en el presente documento), condensado opcionalmente con otro anillo, como se describe en el presente documento.

Por ejemplo, cuando R₉ y R₁ forman un anillo, el anillo es heterocíclico.

Cuando dos de R₁-R₄ forman un anillo y uno o más de R₁-R₄ es amina, hidroxilo, tiol, sulfato, sulfonato, amida, etc., el anillo formado es heterocíclico.

Cuando dos de R₁-R₄ forman un anillo y cada uno es alquilo, el anillo formado es carbocíclico.

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, R₉ es hidrógeno (H).

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, R₉ es alquilo, tales como, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, etc.

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, R₁-R₄ son cada uno hidrógeno.

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, al menos uno de R₁-R₄ es un sustituyente (es decir, distinto de hidrógeno).

De acuerdo con algunas realizaciones, al menos uno de R₁-R₄ es una amina, preferentemente una amina sustituida.

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, cada uno de R₅-R₈ es hidrógeno.

Como alternativa, uno o más de R₅-R₈ es un sustituyente (es decir, distinto de hidrógeno).

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, uno o más de R₅-R₈ es un sustituyente tal como hidroxilo, tiol, alcoxi o tioalcoxi, como se define en el presente documento.

Además, como alternativa, para cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento para los compuestos de Fórmula I, dos de R₁-R₄ y R₉ y/o R₅-R₉ forman juntos un anillo cíclico.

De acuerdo con algunas realizaciones, R₁ y R₉ forman juntos un anillo cíclico.

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, R₁ y R₉ forman juntos un anillo heterocíclico y en algunas realizaciones, el anillo heterocíclico es un heteroarilo.

En algunas de estas realizaciones, R₇ es metoxi, aunque se contempla cualquier otro sustituyente como se describe en el presente documento.

En algunas de estas realizaciones, R₃ es una amina sustituida y la amina está preferentemente sustituida por un aminoalquilo. En algunas realizaciones, el aminoalquilo es un dialquilaminoalquilo, como se representa, como un ejemplo comparativo que no forma parte de la invención, para el compuesto 637993 en la Tabla 2.

De acuerdo con algunas realizaciones, tales compuestos son útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias o hiperproliferativas como se describe en el presente documento, que son distintos del cáncer.

De acuerdo con algunas de las realizaciones relacionadas con la Fórmula I como se describe en el presente documento, Y está ausente. Dichos compuestos tienen un anillo de cinco miembros condensado y colocado entre los anillos aromáticos en la Fórmula I.

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, R₉ es H.

De acuerdo con alguna de estas realizaciones, R₉ es alquilo, tales como, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, etc. y, en algunas realizaciones, R₉ es un alquilo sustituido.

En algunas realizaciones, R₉ es un alquilo sustituido y el sustituyente es O-carboxilato, como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones el alquilo se sustituye por benzoato. En algunas realizaciones, R₉ es benzoato de etilo.

En algunas de cualquiera de las realizaciones de Fórmula I como se describen en el presente documento, cuando Y está ausente, cada uno de R₁-R₄ es hidrógeno. Sin embargo, uno o más de R₁-R₄ puede ser un sustituyente como se describe en el presente documento o dos o más pueden formar un anillo, como se describe en el presente documento.

En algunas de cualquiera de las realizaciones de Fórmula I como se describen en el presente documento, cuando Y está ausente, uno o más de R₅-R₈ es alquilo. En algunas realizaciones R₅ y R₈ son cada uno independientemente un alquilo y en algunas realizaciones, cada uno de R₅ y R₈ es metilo.

En algunas de cualquiera de las realizaciones de Fórmula I como se describen en el presente documento, cuando Y está ausente, dos o más de R₅ y R₈ formar un anillo cíclico, como se define en el presente documento y, en algunas realizaciones, el anillo cíclico es un heteroarilo, por ejemplo, piridina. En algunas de estas realizaciones, R₆ y R₇ forman piridina.

En algunas realizaciones de Fórmula I, Y está ausente, R₉ es como se describe en el presente documento, R₁-R₄ son cada uno hidrógeno, R₅ y R₈ son cada uno alquilo tal como metilo y R₆ y R₇ forman un anillo, preferentemente, piridina. Un ejemplo de dicho compuesto es CaCx (véase la Tabla 2). Otro compuesto comparativo que no forma parte de la invención es el compuesto 163433 en la Tabla 2.

En algunas realizaciones, tales compuestos son útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias e hiperproliferativas como se describe en el presente documento, por lo que la enfermedad es distinta de una enfermedad parasitaria (una enfermedad provocada por un parásito).

- 5 Para cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto puede estar en forma de una sal, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable.

10 Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una especie cargada del compuesto original y su contraión, que normalmente se usa para modificar las características de solubilidad del compuesto original y/o para reducir cualquier irritación significativa en un organismo por el compuesto original, sin anular la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado.

Además, cada uno de los compuestos descritos en el presente documento, incluyendo las sales de los mismos, puede estar en forma de un solvato o un hidrato del mismo.

15 El término "solvato" se refiere a un complejo de estequiometría variable (por ejemplo, di-, tri-, tetra-, penta-, hexa- y así sucesivamente), que está formado por un soluto (los compuestos heterocíclicos descritos en el presente documento) y un disolvente, por lo que el disolvente no interfiere con la actividad biológica del soluto.

20 El término "hidrato" se refiere a un solvato, como se ha definido anteriormente en el presente documento, donde el disolvente es agua.

Las presentes realizaciones abarcan además cualquier isomorfo de un compuesto como se describe en el presente documento, cuando el compuesto exhibe polimorfismo.

25 Composiciones farmacéuticas:

Los compuestos (fármacos dirigidos a EGR1) de algunos aspectos de la divulgación pueden administrarse a un organismo en sí mismos o en una composición farmacéutica donde se mezclan con vehículos o excipientes adecuados.

30 Como se usa en el presente documento una "composición farmacéutica" se refiere a una preparación de uno o más de los principios activos descritos en el presente documento con otros componentes químicos tales como vehículos y excipientes fisiológicamente adecuados. El fin de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto a un organismo.

En el presente documento la expresión "principio activo" se refiere al fármaco dirigido a EGR1 responsable del efecto biológico.

40 En lo sucesivo en el presente documento, las expresiones "vehículo fisiológicamente aceptable" y "vehículo farmacéuticamente aceptable" que pueden usarse indistintamente se refieren a un vehículo o un diluyente que no provoca irritación significativa a un organismo y no anula la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado. En estas expresiones se incluye un adyuvante.

45 En el presente documento el término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar adicionalmente la administración de un principio activo. Los ejemplos, sin limitación, de excipientes incluyen carbonato cálcico, fosfato cálcico, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

50 Pueden encontrarse técnicas para la formulación y administración de fármacos en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición.

Las vías de administración adecuadas pueden, por ejemplo, incluir el suministro oral, rectal, transmucoso, especialmente transnasal, intestinal o parenteral, incluyendo inyecciones intramusculares, subcutáneas e intramedulares así como inyecciones intratecales, intraventriculares directas, intracardiacas, por ejemplo, en la cavidad ventricular derecha o izquierda, en la arteria coronaria común, intravenosas, intraperitoneales, intranasales o intraoculares.

60 De acuerdo con una realización, los medicamentos dirigidos a EGR1 están formulados para administración cutánea, por ejemplo, tópica (por ejemplo, a un tejido queratinoso, tal como la piel, el cuero cabelludo), subcutánea, administración dérmica transdérmica. Por ejemplo, la composición farmacéutica de algunas realizaciones de la divulgación se formula como una crema, una loción, un pulverizador, una pomada, un bálsamo, un gel, un aceite, un lavado, etc. para aplicar o esparcir sobre la superficie del cuerpo, es decir, la piel, el cuero cabelludo, el cabello, las uñas y similares, preferentemente en la superficie o muy cerca de la inflamación (por ejemplo, psoriasis).

65 Los enfoques convencionales para la administración de fármacos al sistema nervioso central (SNC) incluyen:

estrategias neuroquirúrgicas (por ejemplo, inyección intracerebral o infusión intracerebroventricular); manipulación molecular del agente (por ejemplo, producción de una proteína de fusión quimérica que comprende un péptido de transporte que tiene una afinidad por una molécula de superficie celular endotelial en combinación con un agente que en sí mismo es incapaz de cruzar la BHE) en un intento de aprovechar una de las rutas de transporte endógenas de la BHE; estrategias farmacológicas diseñadas para aumentar la solubilidad en lípidos de un agente (por ejemplo, conjugación de agentes hidrosolubles con transportadores lipídicos o de colesterol); y la alteración transitoria de la integridad de la BHE mediante alteración hiperosmótica (que es el resultado de la infusión de una solución de manitol en la arteria carótida o del uso de un agente biológicamente activo tal como un péptido de angiotensina). Sin embargo, cada una de estas estrategias tiene limitaciones, tales como los riesgos intrínsecos asociados a un procedimiento quirúrgico invasivo, una limitación de tamaño impuesta por una limitación intrínseca a los sistemas de transporte endógeno, efectos secundarios biológicos potencialmente indeseables asociados con la administración sistémica de una molécula quimérica compuesta por un motivo transportador que podría estar activo fuera del SNC y el posible riesgo de daño cerebral dentro de las regiones del cerebro donde se altera la BHE, lo que lo convierte en un método de suministro deficiente.

Como alternativa, puede administrarse la composición farmacéutica de una manera local en lugar de sistémica, por ejemplo, mediante inyección de la composición farmacéutica directamente en una región tisular de un paciente.

Las composiciones farmacéuticas de algunas realizaciones de la divulgación pueden fabricarse mediante procesos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, por medio de procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización.

Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación pueden formularse por lo tanto de manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y adyuvantes, que facilitan el procesamiento de los principios activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida.

Para inyección, los principios activos de la composición farmacéutica pueden formularse en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer o tampón salino fisiológico. Para la administración transmucosa, en la formulación se usan penetrantes adecuados a la barrera que se ha de permear. Dichos penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

Para la administración oral, la composición farmacéutica puede formularse fácilmente combinando los principios activos con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales vehículos permiten que la composición farmacéutica se formule como comprimidos, tabletas, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para la ingesta oral por un paciente. Pueden prepararse preparaciones farmacológicas para su uso oral usando un excipiente sólido, opcionalmente moliendo la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir auxiliares adecuados si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Son excipientes adecuados, en particular, cargas tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carbometilcelulosa sódica; y/o polímeros fisiológicamente aceptables tales como polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido alginico o una sal del mismo tal como alginato sódico.

Los núcleos de grageas se proporcionan con recubrimientos adecuados. Para este fin, pueden usarse soluciones concentradas de azúcar que opcionalmente pueden contener goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol, dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes adecuados. Pueden añadirse colorantes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de grageas para la identificación o para caracterizar distintas combinaciones de dosis de compuestos activos.

Las composiciones farmacéuticas que pueden usarse por vía oral, incluyen cápsulas de encaje a presión hechas de gelatina, así como cápsulas blandas, selladas hechas de gelatina y un plastificante, tales como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste por presión pueden contener los principios activos en mezcla con una carga tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones, lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los principios activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Adicionalmente, pueden añadirse estabilizantes. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en dosificaciones adecuadas para la vía de administración elegida.

Para la administración bucal, las composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o pastillas para chupar formulados de forma convencional.

Para la administración mediante inhalación nasal, los principios activos para su uso de acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación se suministran convenientemente en forma de una presentación de pulverización en aerosol de un envase presurizado o un nebulizador con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo,

diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano o dióxido de carbono. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse dotándolo de una válvula para suministrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina, para su uso en un dosificador pueden formularse conteniendo una mezcla de polvo del compuesto y una base de polvo adecuada, tal como lactosa o almidón.

La composición farmacéutica descrita en el presente documento puede formularse para administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección en embolada o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en una forma farmacéutica unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis con, opcionalmente, un conservante añadido. Las composiciones pueden ser suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleaginosos o acuosos y pueden comprender agentes de formulación, tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de la preparación de principio activo en forma hidrosoluble. Adicionalmente, pueden prepararse suspensiones de los principios activos como suspensiones para inyección de base oleaginosa o acuosa apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo o ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato de etilo, triglicéridos o liposomas. Las suspensiones de inyección acuosas pueden contener sustancias, que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que aumenten la solubilidad de los principios activos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.

Como alternativa, el principio activo puede estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, solución basada en agua estéril, apirógena, antes de su uso.

La composición farmacéutica de algunas realizaciones de la divulgación también puede formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, usando, por ejemplo, bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Para la administración tópica, la composición farmacéutica puede formularse en cualquiera de una diversidad de formas utilizadas por la industria farmacéutica para aplicación en la piel incluyendo soluciones, lociones, pulverizadores, cremas, pomadas, bálsamos, geles, aceites, un lavado, etc., como se describe a continuación.

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden formularse lo suficientemente viscosas para permanecer en el área de la piel tratada, que no se evaporen fácilmente y/o que no se eliminen fácilmente enjuagándolas con agua, sino que es retirable con la ayuda de jabones, limpiadores y/o champús.

Los métodos para preparar composiciones que tengan tales propiedades son bien conocidos por los expertos en la materia y se describen en detalle en Remington's Pharmaceutical Sciences, 1990 (citado anteriormente); y Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 6ª ed., Williams & Wilkins (1995).

Las composiciones tópicas de la divulgación objeto, incluyendo pero no limitado a lociones y cremas, pueden comprender un emoliente dermatológicamente aceptable. Como se usa en el presente documento, "emoliente" se refiere a un material útil para la prevención o el alivio de sequedad, así como para la protección de la piel. Se conocen amplias diversidades de emolientes adecuados y pueden usarse en el presente documento. Véase, por ejemplo, Sagarin, Cosmetics, Science and Technology, 2ª Edición, Vol. 1, pp. 3243 (1972), que contiene numerosos ejemplos de materiales adecuados como emoliente. Los emolientes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, glicerina, aceites y ceras de hidrocarburo, tales como aceite mineral, vaselina y similares, aceites y grasas vegetales y animales, tales como aceite de oliva, aceite de palma, aceite de ricino, aceite de maíz, aceite de soja y similares y lanolina y sus derivados, tales como lanolina, aceite de lanolina, cera de lanolina, alcoholes de lanolina y similares.

La composición farmacéutica de aplicación tópica de la presente divulgación también puede incluir componentes adicionales que se añaden, por ejemplo, para enriquecer las composiciones farmacéuticas con fragancia y factores de nutrición de la piel.

Dichos componentes se seleccionan adecuados para su uso en tejido queratinoso humano sin inducir toxicidad, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica y similares dentro del alcance del buen juicio médico. Adicionalmente, dichos componentes opcionales son útiles siempre que no alteren inaceptablemente los beneficios de los compuestos activos de la divulgación.

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden aplicarse directamente sobre la piel. Como alternativa, puede administrarse a través de la aplicación normal en la piel mediante diversos sistemas de administración transdérmica de fármacos que se conocen en la técnica, tales como parches transdérmicos que liberan la composición en la piel en forma de liberación prolongada. Otros sistemas de administración de fármacos conocidos en la técnica incluyen botellas de aerosol presurizadas, iontoforesis o sonoforesis. La iontoforesis se emplea para aumentar la permeabilidad de la piel y facilitar la administración transdérmica. Las Patentes de EE.UU. N.º 5.667.487 y 5.658.247 desvelan un aparato ionosónico adecuado para el transporte de agentes terapéuticos mediado por

ultrasonidos iontoforéticamente a través de la piel. Como alternativa o además, también pueden emplearse liposomas o micelas como un vehículo de suministro.

La composición farmacéutica puede formularse como una forma de dosificación unitaria. En dicha forma, la preparación se subdivide en formas farmacéuticas que contienen cantidades apropiadas de los principios activos tal como para una administración individual. La forma farmacéutica unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades discretas de preparación, por ejemplo, un vendaje adhesivo, un vendaje no adhesivo, una toallita, una toallita para bebés, una gasa, una almohadilla y una compresa.

La cantidad de principio activo en una forma farmacéutica de preparación puede variarse o ajustarse de acuerdo con la aplicación particular.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en el contexto de algunas realizaciones de la divulgación incluyen composiciones en donde los principios activos están contenidos en una cantidad eficaz para lograr el fin pretendido. Más específicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad de principios activos (fármaco dirigido a EGR1) eficaz para prevenir, tratar o reducir la respuesta inflamatoria (por ejemplo, efecto antiinflamatorio) o la enfermedad hiperproliferativa (por ejemplo, efecto antitumoral) o prolongar la supervivencia del sujeto que se está tratando. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un fármaco dirigido a EGR1 puede determinarse de manera rutinaria mediante cualquier método conocido por un experto en la materia (por ejemplo, análisis de sangre, ultrasonidos, rayos X, exploración CT, IRM, etc.).

Por lo tanto, la determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz se encuentra dentro de la capacidad de los expertos en la materia, especialmente a la luz de la divulgación detallada proporcionada en el presente documento.

Para cualquier preparación usada en los métodos de la divulgación, la cantidad o dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular e *in vitro*. Por ejemplo, puede formularse una dosis en modelos animales para conseguir una concentración o un título deseado. Dicha información puede usarse para determinar de forma más precisa las dosis útiles en seres humanos.

La toxicidad y la efectividad terapéutica de los principios activos descritos en el presente documento pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales *in vitro*, en cultivos celulares o animales experimentales. Los datos obtenidos de estos ensayos *in vitro* y de cultivo celular y estudios animales pueden utilizarse en la formulación de un intervalo de dosificación para su uso en el ser humano. La dosificación puede variar dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación pueden elegirse por el médico individual a la vista del estado del paciente. (Véase, por ejemplo, Fingl, *et al.*, 1975, en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Cap. 1 pág. 1).

La cantidad y el intervalo de dosificación pueden ajustarse individualmente para proporcionar amplios niveles del principio activo que sean suficientes para inducir o suprimir el efecto biológico (concentración eficaz mínima, MEC). La MEC variará para cada preparación, pero puede estimarse a partir de datos *in vitro*. Las dosificaciones necesarias para lograr la CEM dependerán de las características individuales y de la vía de administración. Pueden usarse ensayos de detección para determinar las concentraciones plasmáticas.

Dependiendo de la gravedad y el grado de respuesta de la afección a tratar, la dosificación puede ser de una única administración o una pluralidad de administraciones, durando el ciclo de tratamiento de varios días a varias semanas o hasta que se efectúe la curación o se logre la disminución de la patología.

La cantidad de una composición a administrar será, por supuesto, dependiente del sujeto que se esté tratando, la gravedad de la afección, la forma de administración, el criterio del médico que la receta, etc.

Se apreciará que el artículo de fabricación puede comprender además otro principio activo para mejorar la efectividad terapéutica. Por lo tanto, por ejemplo, las moléculas de la presente divulgación pueden administrarse en combinación con una terapia contra el cáncer, por ejemplo, un agente quimioterapéutico, inmunoterapia, radioterapia y/o con un agente para el tratamiento de la inflamación, por ejemplo, agente antiinflamatorio. Por lo tanto, por ejemplo, el fármaco dirigido a EGR1 puede envasarse en un recipiente mientras que el agente quimioterapéutico o el agente antiinflamatorio pueden envasarse en un segundo recipiente ambos para tratamiento terapéutico.

De acuerdo con una realización, el fármaco dirigido a EGR1 y el agente quimioterapéutico están en una co-formulación.

De acuerdo con otra realización, el fármaco dirigido a EGR1 y el agente antiinflamatorio están en una co-formulación.

Como se usa en el presente documento, los términos "quimioterapia" o "quimioterapéutico" se refieren a un agente que reduce, previene, mitiga, limita y/o retrasa el crecimiento de neoplasias o metástasis o mata las células neoplásicas directamente por necrosis o apoptosis de las neoplasias o cualquier otro mecanismo, o que pueda usarse de otro modo, en una cantidad farmacéuticamente eficaz, para reducir, prevenir, mitigar, limitar y/o retrasar el crecimiento de neoplasmas o metástasis en un sujeto con enfermedad neoplásica (por ejemplo, cáncer).

Los agentes quimioterapéuticos incluyen, pero no se limitan a, fluoropirimidinas; nucleósido de pirimidina; nucleósidos de purina; antifolatos, agentes de platino; antraciclinas/antracenedionas; epipodofilotoxinas; camptotecinas (por ejemplo, karenitecina); hormonas; complejos hormonales; antihormonas; enzimas, proteínas, péptidos y anticuerpos policlonales y/o monoclonales; agentes inmunológicos; alcaloides de la vinca; taxanos; epotilonas; agentes antimicrotúbulos; agentes alquilantes; antimetabolitos; inhibidores de la topoisomerasa; antivíricos; y diversos otros agentes citotóxicos y citostáticos.

De acuerdo con una realización específica, los agentes quimioterapéuticos incluyen, pero no se limitan a Acivicina; Aclarrubicina; Clorhidrato de acodazol; Acronina; Adriamicina; Adozelesina; Aldesleucina; Altretamina; Ambomicina; Acetato de ametantrona; Aminoglutetimida; Amsacrina; Anastrozol; Antramycin; Asparaginasa; Asperlina; Azacitidina; Azetepa; Azotomicina; Batimastat; Benzodepa; Bicalutamida; Clorhidrato de bisantreno; Dimesilato de bisnafida; Bizelesina; Sulfato de bleomicina; Brequinar sódico; Bropirimina; Busulfán; Cactinomicina; Calusterona; Caracemida; Carbetimer; Carboplatino; Carmustina; Clorhidrato de carubicina; Carzelesina; Cedefingol; Clorambucilo; Cirolemicina; Cisplatino; Cladribina; Mesilato de crisnatol; Ciclofosfamida; Citarabina; Dacarbazina; Dactinomicina; Clorhidrato de danurrobicina; Decitabina; Dexormaplatino; Dezaguanina; Mesilato de dezaguanina; Diazicuona; Docetaxel; Doxorubicina; Clorhidrato de doxorubicina; Droloxifeno; Citrato de droloxifeno; Propionato de dromostanolona; Duazomicina; Edatrexato; Clorhidrato de eflornitina; Elsamitricina; Enloplatino; Enpromato; Epiropidina; Clorhidrato de epirubicina; Erbulozol; Clorhidrato de esorubicina; Estramustina; Fosfato sódico de estramustina; Etanidazol; Etopósido; Fosfato de etopósido; Etoprina; Clorhidrato de fadrozol; Fazarabina; Fenretinida; Floxuridina; Fosfato de fludarabina; Fluorouracilo; Flurocitabina; Fosquidona; Fostriecina sódica; Gemcitabina; Clorhidrato de gemcitabina; Hidroxiurea; Clorhidrato de idarrubicina; Ifosfamida; Ilmofoquina; Interferón alfa-2a; Interferón alfa-2b; Interferón alfa-n1; Interferón alfa-n3; Interferón beta-1 a; Interferón gamma-1 b; iproplatino; Clorhidrato de irinotecán; Acetato de lanreotida; Letrozol; Acetato de leuprorelina; Clorhidrato de liarozol; Lometrexol sódico; Lomustina; Clorhidrato de losoxantrona; Masoprocol; Maitansina; Clorhidrato de mecloretamina; Acetato de megestrol; Acetato de melengestrol; Melfalán; Menogaril; Mercaptopurina; Metotrexato; Metotrexato sódico; Metoprina; Metureda; Mitindomida; Mitocarcina; Mitocromina; Mitogilina; Mitomalcina; Mitomicina; Mitosper; Mitotano; Clorhidrato de mitoxantrona; Ácido micofenólico; Nocodazol; Nogalamina; Ormaplatino; Oxisurano; Paclitaxel; Pegaspargasa; Peliomicina; Pentamustina; Sulfato de peplomicina; Perfosfamida; Pipobromano; Pipsulfano; Clorhidrato de piroxantrona; Plicamicina; Plomestano; Porfímero sódico; Porfiromicina; Prednimustina; Clorhidrato de procarbazona; Puomicina; Clorhidrato de puomicina; Pirazofurina; Riboprina; Rogletimida; Safingol; Clorhidrato de safingol; Semustina; Simtrazeno; Esparfosato sódico; Esparsomicina; Clorhidrato de espirogermanio; Espiromustina; Espiropatino; Estreptonigrina; Estreptozocina; Sulofenur; Talisomicina; Taxol; Tecogalán sódico; Tegafur; Clorhidrato de teloxantrona; Temoporfina; Tenipósido; Teróxirona; Testolactona; Tiamiprina; Tioguanina; Tiotepa; Tiazofurina; Tirapazamina; Clorhidrato de topotecán; Citrato de toremifeno; Acetato de trestolona; Fosfato de triciribina; Trimetrexato; Glucuronato de trimetrexato; Triptorelina; Clorhidrato de tubulozol; Uramustina; Ureda; Vapreotida; Verteporfina; Sulfato de vinblastina; Sulfato de vincristina; Vindesina; Sulfato de vindesina; Sulfato de vinepidina; Sulfato de vinglicinato; Sulfato de vinleurosina; Tartrato de vinorelbina; Sulfato de vinrosidina; Sulfato de vinzolidina; Vorozol; Zinplatino; Zinostatina; Clorhidrato de zorrubicina. Los agentes antineoplásicos adicionales incluyen aquellos descritos en el Capítulo 52, Antineoplastic Agents (Paul Calabresi y Bruce A. Chabner) y la introducción del mismo, 1202-1263, de "The Pharmacological Basis of Therapeutics" de Goodman y Gilman, Octava edición, 1990, McGraw-Hill, Inc. (Health Professions Division).

Para mejorar el tratamiento del cáncer, la presente divulgación prevé además administrar al sujeto una terapia adicional tal como radioterapia, quimioterapia, fototerapia y terapia fotodinámica, cirugía, terapia nutricional, terapia ablativa, radioterapia y quimioterapia combinadas, braquiterapia, terapia de haces de protones, inmunoterapia, terapia celular y terapia radioquirúrgica con haz de fotones. También se contemplan agentes analgésicos y otros regímenes de tratamiento.

Como se usa en el presente documento, los términos "antiinflamatorio" se refieren a un agente que previene o reduce la respuesta inflamatoria, o que alivia la inflamación al reducir los síntomas de la inflamación tales como enrojecimiento, dolor, calor o hinchazón.

Los fármacos antiinflamatorios que pueden administrarse en combinación con el fármaco dirigido a EGR1 de algunas realizaciones de la divulgación incluyen, pero no se limitan a Alclufenaco; Dipropionato de alclometasona; Algestona acetona; Alfa amilasa; Amcinafal; Amcinafida; Amfenaco sódico; Clorhidrato de amiprilosa; Anakinra; Aniolaco; Anitrazafeno; Apazona; Balsalazida disódica; Bendazaco; Benoxaprofeno; Clorhidrato de bencidamina; Bromelaínas; Broperamol; Budesonida; Carprofeno; Cicloprofeno; Cintazona; Cliprofeno; Propionato de clobetasol; Butirato de clobetasona; Clopiraco; Propionato de cloticasona; Acetato de cormetasona; Cortodoxona; Deflazacort; Desonida; Desoximetasona; Dipropionato de dexametasona; Diclofenaco potásico; Diclofenaco sódico; Diacetato de diflorasona; Diflumidona sódica; Diflunisal; Difluprednato; Diftalona; Dimetilsulfóxido; Drocinonida; Endrisona; Enlimomab; Enolicam sódico; Epirizol; Etodolaco; Etofenamato; Felbinaco; Fenamol; Fenbufeno; Fenclofenaco; Fencloraco; Fendosal; Fenpipalona; Fentiazaco; Flazalona; Fluazacort; Ácido flufenámico; Flumizol; Acetato de flunisolidina; Flunixin; Flunixin meglumina; Butilo de fluocortina; Acetato de fluorometolona; Flucuaazona; Flurbiprofeno; Fluretofen; Propionato de fluticasona; Furaprofeno; Furobufeno; Halcinonida; Propionato de halobetasol; Acetato de halopredona; Ibufenaco; Ibuprofeno; Ibuprofeno de aluminio; Ibuprofeno piconol; Ilonidap; Indometacina; Indometacina

sódica; Indoprofeno; Indoxol; Intrazol; Acetato de isoflupredona; Isoxepaco; Isoxicam; Ketoprofeno; Clorhidrato de lofemizol; Lomoxicam; Etabonato de loteprednol; Meclofenamato sódico; Ácido meclofenámico; Dibutirato de meclorisona; Ácido mefenámico; Mesalamina; Meseclazona; Suleptanato de metilprednisolona; Momiflumato; Nabumetona; Naproxeno; Naproxeno sódico; Naproxol; Nimazona; Olsalazina sódica; Orgotefina; Orpanoxina; Oxaprozina; Oxifenbutazona; Clorhidrato de parnilina; Polisulfato de pentosano sódico; Glicerato sódico de fenbutazona; Pírfenidona; Piroxicam; Cinamato de piroxicam; Piroxicam olamina; Pírfprofeno; Prednazato; Prifelona; Ácido prodólico; Procuazona; Proxazol; Citrato de proxazol; Rimexolona; Romazarit; Salcolex; Salnacedina; Salsalato; Cloruro de sanguinarina; Seclazona; Sermetacina; Sudoxicam; Sulindaco; Suprofeno; Talmetacina; Talniflumato; Talosalato; Tebufelona; Tenidap; Tenidap sódico; Tenoxicam; Tesicam; Tesimida; Tetridamina; Tiopinaco; Pivalato de tixocortol; Tolmetina; Tolmetina sódica; Triclonida; Triflumidato; Zidometacina; Zomepiraco sódico.

Las composiciones (fármaco dirigido a EGR1 y/u opcionalmente agente anticancerígeno o antiinflamatorio, tal como se describe anteriormente) de algunas realizaciones de la divulgación pueden, si se desea, presentarse en un envase o dispositivo dosificador, tal como un kit aprobado por la FDA, que puede contener una o más formas farmacéuticas unitarias que contienen el principio activo. El envase puede, por ejemplo, comprender papel metálico o de plástico, tal como un envase de tipo blíster. El envase o dispositivo dosificador puede estar acompañado de instrucciones para la administración. El envase o dosificador también puede estar acompañado de una nota asociada con el recipiente en una forma prescrita por un organismo público que regule la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos, reflejando dicha nota la aprobación por parte del organismo de la forma de las composiciones o la administración humana o veterinaria. Dicha nota, por ejemplo, puede ser un etiquetado aprobado por la Food and Drug Administration de EE.UU. para fármacos con receta o un prospecto de producto aprobado. Además, pueden prepararse composiciones que comprenden una preparación de la divulgación formulada en un vehículo farmacéutico compatible, colocarse en un recipiente adecuado y marcarse para el tratamiento de una afección indicada, como se ha detallado anteriormente de manera adicional.

Definiciones

Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a $\pm 10\%$.

Las expresiones "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "que tiene" y sus conjugaciones significan "que incluye pero no limitado a".

La expresión "que consiste en" significa "que incluye y se limita a".

La expresión "que consiste esencialmente en" significa que la composición, el método o la estructura puede incluir ingredientes, etapas y/o partes adicionales, pero solo si los ingredientes, las etapas y/o las partes adicionales no alteran materialmente las características básicas y novedosas de la composición, el método o la estructura reivindicados.

Como se usa en el presente documento, la forma singular "un", "uno/a" y "el/la" incluyen referencias en plural, salvo que el contexto indique claramente otra cosa. Por ejemplo, la expresión "un compuesto" o "al menos un compuesto" puede incluir una pluralidad de compuestos, incluyendo mezclas de los mismos.

A lo largo de la presente solicitud, diversas realizaciones de esta divulgación pueden presentarse en un formato de intervalo. Debe entenderse que la descripción en formato de intervalo es meramente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible del alcance de la divulgación. En consecuencia, debe considerarse que la descripción de un intervalo ha desvelado específicamente todos los posibles subintervalos, así como valores numéricos individuales en ese intervalo. Por ejemplo, debe considerarse que la descripción de un intervalo tal como de 1 a 6 ha divulgado específicamente subintervalos tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto es aplicable independientemente de la amplitud del intervalo.

Siempre que se indique un intervalo numérico en el presente documento, se pretende incluir cualquier número citado (fraccionario o entero) dentro del intervalo indicado. Las expresiones "que varía/varía entre" un primer número indicador y un segundo número indicador y "que varía/varía de" un primer número indicador "a" un segundo número indicador se usan indistintamente en el presente documento y se entiende que incluyen los números indicadores primero y segundo, y todos los números fraccionarios y enteros entre ellos.

Como se usa en el presente documento, el término "método" se refiere a formas, medios, técnicas y procedimientos para llevar a cabo una tarea dada incluyendo, pero no limitado a, aquellas formas, medios, técnicas y procedimientos tanto conocidos como desarrollados a partir de formas, medios, técnicas y procedimientos conocidos por los especialistas de las técnicas química, farmacológica, biológica, bioquímica y médica.

Como se usa en el presente documento, el término "amina" describe tanto un grupo -NR'R" como un grupo -NR', en donde R' y R" son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, como estos términos se definen a continuación.

Por tanto, el grupo amina puede ser una amina primaria, donde tanto R' como R" son hidrógeno, una amina secundaria, donde R' es hidrógeno y R" es alquilo, cicloalquilo o arilo o una amina terciaria, donde cada uno de R' y R" es independientemente alquilo, cicloalquilo o arilo.

Como alternativa, R' y R" pueden ser cada uno independientemente hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, ciano, nitro, azo, sulfonamida, carbonilo, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, N-carbamato, O-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina.

Cuando una amina forma parte de un anillo, como, por ejemplo, en la Fórmula I, sus sustituyentes son como se definen en el presente documento para la Fórmula I.

El término "alquilo" describe un hidrocarburo alifático saturado que incluye grupos de cadena lineal y de cadena ramificada. Preferentemente, el grupo alquilo tiene de 1 a 20 átomos de carbono. Siempre que sea un intervalo numérico; por ejemplo, "1-20", como se indica en el presente documento, implica que el grupo, en este caso el grupo alquilo, puede contener 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta 20 átomos de carbono inclusive. Más preferentemente, el alquilo es un alquilo de tamaño medio que tiene de 1 a 10 átomos de carbono. Lo más preferentemente, salvo que se indique lo contrario, el alquilo es un alquilo inferior que tiene de 1 a 4 átomos de carbono (alquilo C(1-4)). El grupo alquilo puede estar sustituido o no sustituido. El alquilo sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser, independientemente, por ejemplo, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, N-carbamato, O-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina.

El grupo alquilo puede ser un grupo terminal, como se define esta expresión anteriormente en el presente documento, en donde está fijado a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como se define esta expresión anteriormente en el presente documento, que conecta dos o más restos a través de al menos dos carbonos en su cadena. Cuando el alquilo es un grupo de enlace, también se denomina en el presente documento "alquilenilo" o "cadena de alquilenilo".

Alqueno y Alquino, como se usa en el presente documento, son un alquilo, como se define en el presente documento, que contienen uno o más dobles enlaces o triples enlaces, respectivamente.

Siempre que un grupo alquilo se describa en el presente documento como un sustituyente, puede estar reemplazado por alqueno o alquino, como se describe en el presente documento.

El término "cicloalquilo" describe un anillo monocíclico de carbono o anillos condensados (es decir., anillos que comparten un par de átomos de carbono adyacentes) donde uno o más de los anillos no tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. Los ejemplos incluyen, sin limitación, ciclohexano, adamantano, norbornilo, isobornilo y similares. El grupo cicloalquilo puede estar sustituido o no sustituido. El cicloalquilo sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser, independientemente, por ejemplo, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, N-carbamato, O-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina. El grupo cicloalquilo puede ser un grupo terminal, como se define esta expresión anteriormente en el presente documento, en donde está fijado a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como se define esta expresión anteriormente en el presente documento, conectando dos o más restos en dos o más posiciones de los mismos.

El término "heteroalíclico" describe un grupo de anillo monocíclico o condensado que tiene en el anillo o anillos, uno o más átomos, tales como nitrógeno, oxígeno y azufre. Los anillos también pueden tener uno o más dobles enlaces. Sin embargo, los anillos no tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. Son ejemplos representativos piperidina, piperazina, tetrahidrofurano, tetrahidropirano, morfolino, oxalidina y similares. El heteroalíclico puede estar sustituido o no sustituido. El heteroalíclico sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser, independientemente, por ejemplo, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, O-carbamato, N-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina. El grupo heteroalíclico puede ser un grupo terminal, como se define esta expresión anteriormente en el presente documento, donde está fijado a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como se define esta expresión anteriormente en el presente documento, conectando dos o más restos en dos o más posiciones de los mismos.

El término "arilo" describe grupos monocíclicos de carbono o policíclicos de anillo condensado (es decir., anillos que comparten pares adyacentes de átomos de carbono) que tienen un sistema de electrones pi completamente

conjugado. El grupo arilo puede estar sustituido o sin sustituido o sin no sustituido. El arilo sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser, independientemente, por ejemplo, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, N-carbamato, O-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina. El grupo arilo puede ser un grupo terminal, como se define este término anteriormente en el presente documento, en donde está fijado a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como se define este término anteriormente en el presente documento, conectando dos o más restos en dos o más posiciones de los mismos.

El término "heteroarilo" describe un grupo de anillo monocíclico o condensado (es decir, anillos que comparten un par de átomos adyacentes) que tiene en el anillo o anillos uno o más átomos, tales como, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre y, adicionalmente, que tiene un sistema de electrones pi completamente conjugado. Los ejemplos, sin limitación, de grupos heteroarilo incluyen pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirimidina, quinolina, isoquinolina y purina. El grupo heteroarilo puede estar sustituido o no sustituido. El heteroarilo sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser, independientemente, por ejemplo, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, O-carbamato, N-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina. El grupo heteroarilo puede ser un grupo terminal, como se define esta expresión anteriormente en el presente documento, donde está fijado a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como se define esta expresión anteriormente en el presente documento, conectando dos o más restos en dos o más posiciones de los mismos. Son ejemplos representativos piridina, pirrol, oxazol, indol, purina y similares.

El término "haluro" y "halo" describen flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "haloalquilo" describe un grupo alquilo como se define anteriormente, sustituido además con uno o más haluros. Un trihaloalquilo, tal como trihalometilo describe un grupo $-CT_3$, donde cada T es halo.

El término "hidroxilo" describe un grupo $-OH$.

El término "alcoxi" describe tanto un grupo $-O$ -alquilo como un grupo $-O$ -cicloalquilo, como se define en el presente documento.

El término "ariloxi" describe tanto un grupo $-O$ -arilo como un grupo $-O$ -heteroarilo, como se define en el presente documento.

El término "tiohidroxilo" o "tio" describe un grupo $-SH$.

El término "tioalcoxi" describe tanto un grupo $-S$ -alquilo como un grupo $-S$ -cicloalquilo, como se define en el presente documento.

El término "tioariloxi" describe tanto un grupo $-S$ -arilo como un grupo $-S$ -heteroarilo, como se define en el presente documento.

El "hidroxialquilo" también se denomina en el presente documento "alcohol" y describe un alquilo, como se define en el presente documento, sustituido con un grupo hidroxilo.

El término "ciano" describe un grupo $-C\equiv N$.

El término "nitro" describe un grupo $-NO_2$.

El término "sulfato" describe un grupo terminal $-OS(=O)_2-OR'$, como este término se define anteriormente en el presente documento, o un grupo de enlace $-OS(=O)_2-O-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define anteriormente en el presente documento.

El término "tiosulfato" describe un grupo terminal $-O-S(=S)(=O)-OR'$ o un grupo de enlace $-O-S(=S)(=O)-O-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define anteriormente en el presente documento.

El término "sulfito" describe un grupo terminal $-O-S(=O)-O-R'$ o un grupo de enlace $-O-S(=O)-O-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define anteriormente en el presente documento.

El término "tiosulfito" describe un grupo terminal $-O-S(=S)-O-R'$ o un grupo de enlace $-O-S(=S)-O-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define anteriormente en el presente documento.

presente documento.

El término "sulfinato" describe un grupo terminal $-S(=O)-OR'$ o un grupo de enlace $-S(=O)-O-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define anteriormente en el presente documento.

El término "sulfóxido" o "sulfinilo" describe un grupo terminal $-S(=O)R'$ o un grupo de enlace $-S(=O)-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define anteriormente en el presente documento.

El término "sulfonato" describe un grupo terminal $-S(=O)_2R'$ o un grupo de enlace $-S(=O)_2-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define en el presente documento.

El término "S-sulfonamida" describe un grupo terminal $-S(=O)_2-NR'R''$ o un grupo de enlace $-S(=O)_2-NR'-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' y R'' como se definen en el presente documento.

El término "N-sulfonamida" describe un grupo terminal $R'S(=O)_2-NR''$ o un grupo de enlace $-S(=O)_2-NR'-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' y R'' son como se definen en el presente documento.

El término "carbonilo" o "carbonato" como se usa en el presente documento, describe un grupo terminal $-C(=O)-R'$ o un grupo de enlace $-C(=O)-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' como se define en el presente documento.

El término "tiocarbonilo" como se usa en el presente documento, describe un grupo terminal $-C(=S)-R'$ o un grupo de enlace $-C(=S)-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' como se define en el presente documento.

El término "oxo" como se usa en el presente documento, describe un grupo $(=O)$, en donde un átomo de oxígeno está enlazado mediante un doble enlace al átomo (por ejemplo, átomo de carbono) en la posición indicada.

El término "tiooxo", como se usa en el presente documento, describe un grupo $(=S)$, en donde un átomo de azufre está enlazado mediante un doble enlace al átomo (por ejemplo, átomo de carbono) en la posición indicada.

El término "oxima" describe un grupo terminal $=N-OH$ o un grupo de enlace $=N-O-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento.

La expresión "haluro de acilo" describe un grupo $-(C=O)R'''$ en donde R''' es haluro, como se ha definido anteriormente en el presente documento.

El término "azo" o "diazó" describen un grupo terminal $-N=NR'$ o un grupo de enlace $-N=N-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' como se ha definido anteriormente en el presente documento.

El término "peroxo" describe un grupo terminal $-O-OR'$ o un grupo de enlace $-O-O-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' como se ha definido anteriormente en el presente documento.

El término "carboxilato" como se usa en el presente documento abarca C-carboxilato y O-carboxilato.

El término "C-carboxilato" describe un grupo terminal $-C(=O)-OR'$ o un grupo de enlace $-C(=O)-O-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define en el presente documento.

El término "O-carboxilato" describe un grupo terminal $-OC(=O)R'$ o un grupo de enlace $-OC(=O)-$, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define en el presente documento.

Un carboxilato puede ser lineal o cíclico. Cuando es cíclico, R' y el átomo de carbono se enlazan juntos para formar un anillo, en C-carboxilato, y este grupo también se denomina lactona. Como alternativa, R' y O se enlazan juntos para formar un anillo en O-carboxilato. Los carboxilatos cíclicos pueden funcionar como un grupo de enlace, por ejemplo, cuando un átomo en el anillo formado se enlaza a otro grupo.

El término "tiocarboxilato" como se usa en el presente documento abarca C-tiocarboxilato y O-tiocarboxilato.

El término "C-tiocarboxilato" describe un grupo terminal $-C(=S)-OR'$ o un grupo de enlace $-C(=S)-O-$, como estas

expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define en el presente documento.

5 El término "O-tiocarboxilato" describe un grupo terminal -OC(=S)R' o un grupo de enlace -OC(=S)- , como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' es como se define en el presente documento.

10 Un tiocarboxilato puede ser lineal o cíclico. Cuando es cíclico, R' y el átomo de carbono se enlazan juntos para formar un anillo, en C-tiocarboxilato, y este grupo también se denomina tiolactona. Como alternativa, R' y O se enlazan juntos para formar un anillo en O-tiocarboxilato. Los tiocarboxilatos cíclicos pueden funcionar como un grupo de enlace, por ejemplo, cuando un átomo en el anillo formado se enlaza a otro grupo.

El término "carbamato" como se usa en el presente documento abarca N-carbamato y O-carbamato.

15 El término "N-carbamato" describe un grupo terminal R"OC(=O)-NR' o un grupo de enlace -OC(=O)-NR' , como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' y R" como se definen en el presente documento.

20 El término "O-carbamato" describe un grupo terminal -OC(=O)-NR'R" o un grupo de enlace -OC(=O)-NR' , como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' y R" como se definen en el presente documento.

25 Un carbamato puede ser lineal o cíclico. Cuando es cíclico, R' y el átomo de carbono se enlazan juntos para formar un anillo, en O-carbamato. Como alternativa, R' y O se enlazan juntos para formar un anillo en N-carbamato. Los carbamatos cíclicos pueden funcionar como un grupo de enlace, por ejemplo, cuando un átomo en el anillo formado se enlaza a otro grupo.

El término "carbamato" como se usa en el presente documento abarca N-carbamato y O-carbamato.

30 El término "tiocarbamato" como se usa en el presente documento abarca N-tiocarbamato y O-tiocarbamato.

El término "O-tiocarbamato" describe un grupo terminal -OC(=S)-NR'R" o un grupo de enlace -OC(=S)-NR' , como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' y R" como se definen en el presente documento.

35 El término "N-tiocarbamato" describe un grupo terminal R"OC(=S)NR' o un grupo de enlace -OC(=S)NR' , como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' y R" como se definen en el presente documento.

40 Los tiocarbamatos pueden ser lineales o cíclicos, como se describe en el presente documento para carbamatos.

El término "ditiocarbamato" como se usa en el presente documento abarca S-ditiocarbamato y N-ditiocarbamato.

45 El término "S-ditiocarbamato" describe un grupo terminal -SC(=S)-NR'R" o un grupo de enlace -SC(=S)NR' , como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' y R" como se definen en el presente documento.

50 El término "N-ditiocarbamato" describe un grupo terminal R"SC(=S)NR' o un grupo de enlace -SC(=S)NR' , como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R' y R" como se definen en el presente documento.

55 El término "urea", que también se denomina en el presente documento "ureido", describe un grupo terminal -NR'C(=O)-NR"R" o un grupo de enlace -NR'C(=O)-NR" , como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' y R" son como se definen en el presente documento y R''' es como se define en el presente documento para R' y R".

El término "tiourea", que también se denomina en el presente documento "tioureido", describe un grupo terminal -NR'-C(=S)-NR"R" o un grupo de enlace -NR'-C(=S)-NR" , con R', R" y R''' como se definen en el presente documento.

60 El término "amida" como se usa en el presente documento abarca C-amida y N-amida.

El término "C-amida" describe un grupo terminal -C(=O)-NR'R" o un grupo de enlace -C(=O)-NR' , como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' y R" son como se definen en el presente documento.

65 El término "N-amida" describe un grupo terminal R'C(=O)-NR" o un grupo de enlace R'C(=O)-N- , como estas

expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' y R" son como se definen en el presente documento.

El término "guanilo" describe un grupo terminal R'R"NC(=N)- o un grupo de enlace -R'NC(=N)-, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R' y R" son como se definen en el presente documento.

El término "guanidina" describe un grupo terminal -R'NC(=N)-NR'R"" o un grupo de enlace -R'NC(=N)-NR"-, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R', R" y R"" son como se definen en el presente documento.

El término "hidrazina" describe un grupo terminal -NR'-NR'R"" o un grupo de enlace -NR'-NR"-, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, con R', R" y R"" como se definen en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, el término "hidrazida" describe un grupo terminal -C(=O)-NR'-NR'R"" o un grupo de enlace -C(=O)-NR'-NR"-, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R', R" y R"" son como se definen en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, el término "tiohidrazida" describe un grupo terminal -C(=S)-NR'-NR'R"" o un grupo de enlace -C(=S)-NR'-NR"-, como estas expresiones se definen anteriormente en el presente documento, donde R', R" y R"" son como se definen en el presente documento.

Se apreciará que determinadas características de la divulgación, que son, por claridad, descritas en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una sola realización. Por el contrario, diversas características de la divulgación, que son, por brevedad, descritas en el contexto de una sola realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada o según sea adecuado en cualquier otra realización descrita de la divulgación. Determinadas características descritas en el contexto de diversas realizaciones no deben considerarse características esenciales de esas realizaciones, a menos que la realización no funcione sin esos elementos.

Diversas realizaciones y aspectos de la presente divulgación como se han delineado anteriormente en el presente documento y como se reivindica en la sección de reivindicaciones a continuación encuentran soporte experimental en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

A continuación se hace referencia a los siguientes ejemplos, que, junto con las descripciones anteriores, ilustran la divulgación de manera no limitante.

Generalmente, la nomenclatura usada en el presente documento y los procedimientos de laboratorio utilizados en la presente divulgación incluyen técnicas moleculares, bioquímicas, microbiológicas y de ADN recombinante. Dichas técnicas se explican exhaustivamente en la bibliografía. Véase, por ejemplo, "Molecular Cloning: A laboratory Manual" Sambrook *et al.*, (1989); "Current Protocols in Molecular Biology" Volúmenes I-III Ausubel, R. M., ed. (1994); Ausubel *et al.*, "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989); Perbal, "A Practical Guide to Molecular Cloning", John Wiley & Sons, Nueva York (1988); Watson *et al.*, "Recombinant DNA", Scientific American Books, Nueva York; Birren *et al.* (eds) "Genome Analysis: A Laboratory Manual Series", Vol. 1-4, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York (1998); las metodologías según se exponen en las Pat. de EE.UU. N.º 4.666.828; 4.683.202; 4.801.531; 5.192.659 y 5.272.057; "Cell Biology: A Laboratory Handbook", Volúmenes I-III Cellis, J. E., ed. (1994); "Current Protocols in Immunology" Volúmenes I-III Coligan J. E., ed. (1994); Stites *et al.* (eds), "Basic and Clinical Immunology" (8a Edición), Appleton y Lange, Norwalk, CT (1994); Mishell y Shiigi (eds), "Selected Methods in Cellular Immunology", W. H. Freeman and Co., Nueva York (1980); los inmunoensayos disponibles se describen ampliamente en la bibliografía de patentes y científica, véanse, por ejemplo, las Pat. de EE.UU. N.º 3.791.932; 3.839.153; 3.850.752; 3.850.578; 3.853.987; 3.867.517; 3.879.262; 3.901.654; 3.935.074; 3.984.533; 3.996.345; 4.034.074; 4.098.876; 4.879.219; 5.011.771 y 5.281.521; "Oligonucleotide Synthesis" Gait, M. J., ed. (1984); "Nucleic Acid Hybridization" Hames, B. D. y Higgins S. J., eds. (1985); "Transcription and Translation" Hames, B. D. y Higgins S. J., Eds. (1984); "Animal Cell Culture" Freshney, R. I., ed. (1986); "Immobilized Cells and Enzymes" IRL Press, (1986); "A Practical Guide to Molecular Cloning" Perbal, B., (1984) y "Methods in Enzymology" Vol. 1-317, Academic Press; "PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications", Academic Press, San Diego, CA (1990); Marshak *et al.*, "Strategies for Protein Purification and Characterization - A Laboratory Course Manual" CSHL Press (1996). Se proporcionan otras referencias generales a lo largo del presente documento. Se cree que los procedimientos de los mismos se conocen bien en la técnica y se proporcionan para la comodidad del lector.

MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

Cultivos celulares:

Las células HeLa se cultivaron en DMEM con 4,5 g/l de medio de glucosa que contenía FCS al 10 %, L-glutamina al 1 % y penicilina y estreptomycin al 1 % (Biological Industries) y se crecieron a 37 °C y CO₂ al 5 %.

5 Los fibroblastos transformados con TERC se transformaron con una construcción pBABE-H2AGFP que contenía el gen de la telomerasa humana y se cultivaron en DMEM con alto contenido de glucosa, FCS al 10 %, L-glutamina y Pen-Strep (todos los reactivos de cultivo celular de Biological Industries, Israel). El medio se cambió cada 2-3 días. Las células se usaron en el pase 2-3.

10 Los fibroblastos primarios se aislaron de la piel humana adulta y se cultivaron en DMEM con alto contenido de glucosa, Suero bovino fetal al 10 %, L-glutamina y Pen-Strep. El medio se cambió cada 2-3 días. Las células se usaron en el pase 2-3.

15 Como observación, cuando las células se incubaron con CaCx y ApDx (NCI, MA EE.UU.), se crecieron en el medio apropiado con solo FCS al 0,1 %.

Animales:

20 Los ratones Balb/c (Harlan Laboratories Ltd, Jerusalén, Israel), de 9 semanas de edad, se mantuvieron en una instalación para animales libre de patógenos. Los protocolos de cuidado e investigación de animales habían sido aprobados por el comité institucional para el uso de animales. Se usó imiquimod al 5 % (Perrigo, Israel) como tratamiento tópico para los ratones en la parte superior de la espalda. Los ratones fueron inyectados i.p. cinco veces a la semana con DMSO o 7,5 - 22,5 mg/kg de ApDx y CaCx, respectivamente (NCI). Se usó DMSO al 10 % en lipofusina como vehículo de control.

Ratones quiméricos:

25 Se generaron ratones quiméricos portadores de piel psoriásica humana usando ratones SCID, de 2-3 meses de edad. Los animales se mantuvieron en una instalación para animales libre de patógenos. Se indujo un fenotipo similar a la psoriasis en piel humana normal injertada en ratones mediante inyección intradérmica de linfocitos citotóxicos naturales/linfocitos T derivados de pacientes psoriásicos como se describió anteriormente [Gilhar A *et al.* J Invest Dermatol (2011) 131: 118-124].

Microscopía óptica e inmunohistoquímica:

35 Secciones de biopsias de piel fijadas en formaldehído embebidas en parafina de 5 µm se desparafinizaron y se trataron con H₂O₂ al 3 % en metanol durante 15 minutos a temperatura ambiente, se calentó en un horno de microondas en tampón citrato en una olla a presión durante 25 minutos y se tiñó con un anticuerpo monoclonal anti-Ki67 (Thermo Scientific) durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de 3 lavados (10 minutos cada uno) con solución salina tamponada con fosfato (PBS), los anticuerpos fueron fotografiados usando la técnica ABC (Zymed Laboratories, South San Francisco, CA) y los portaobjetos se contratiñeron con hematoxilina.

40 El grosor epidérmico se definió como la distancia entre la capa granular y la membrana basal y se midió en 10 ubicaciones seleccionadas al azar para cada biopsia usando el software NIS-Elements BR 3.2 (Nikon, NY, EE.UU.). Se tomó una imagen y se midió manualmente en el software seleccionando un borde superior e inferior, como se ha definido anteriormente. La distancia se midió en micrómetros.

PCR de transcripción inversa cuantitativa (qRT-PCR):

50 El ARN se extrajo de cultivos celulares usando un kit de extracción de ARN (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). El ADNc se sintetizó a partir de 500 ng de ARN total usando el kit Verso cDNA (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.). La amplificación por PCR del ADNc se llevó a cabo usando la Fast SYBR Green Master Mix en un Sistema de PCR en tiempo real StepOnePlus™ (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.) con pares de oligonucleótidos de cruzamiento de intrones específicos de genes enumerados en la Tabla 1 (a continuación). Para la cuantificación, las curvas patrón se obtuvieron usando ADNc diluido en serie amplificado en la misma ejecución de qRT-PCR. Se midió la temperatura de fusión (T_m) de los productos amplificados para confirmar la especificidad de las condiciones de reacción. Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: 95 °C durante 10 minutos, 95 °C durante 10 segundos, 62 °C durante 15 segundos y 72 °C durante 25 segundos para un total de 40 ciclos. Cada muestra se analizó por triplicado. El nivel de expresión de ARNm para el gen diana se normalizó a *GAPDH*. Los resultados se basan en la cantidad de diana, normalizada a una referencia endógena (IACTB) y con respecto a un calibrador, como se calcula para 2-ΔΔCT. Todas las muestras se ejecutaron por triplicado. Los niveles de expresión de los genes diana se expresaron como unidades relativas de ARNm.

Tabla 1: Secuencias oligonucleotídicas.

Nombre del gen	Secuencia	SEQ ID NO.
<i>SAMD9 F</i>	5'-CGAGCAAGGTCCTTCATAGTG-3'	1
<i>SAMD9 R</i>	5'-CCGATGACCTCACAGCTCAAG-3'	2
<i>EGR1 F</i>	5'-GGGCAGTCGAGTGGTTTGG-3'	3
<i>EGR1 R</i>	5'-TTGCCGACAGGATGCAGAAGGA-3'	4

Plásmidos y construcciones de expresión:

- 5 Los fragmentos del promotor *SAMD9* clonados en pGL3 como se describió anteriormente [Hershkovitz, D. *et al.* (2011) J Invest Dermatol 131: 662-9], se digirieron con KpnI y XhoI y se subclonaron en pGL4.17 [luc2/Neo] (Promega). El vector de expresión pGL4.17 codifica el gen indicador de luciferasa luc2 (*Photinus pyralis*) y contiene un marcador seleccionable de mamíferos para la resistencia a la neomicina. Para la transfección transitoria, las construcciones de luciferasa del promotor *SAMD9* se transfectaron en células HeLa usando lipofectamine 2000 (Invitrogen, Carlsbad, CA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- 10 Se generaron líneas celulares HeLa que expresaban de manera estable las construcciones bajo selección con neomicina. Brevemente, pGL4.17 que contenía un fragmento del promotor *SAMD9* que abarcaba 585 pb en dirección 5' del TSS y un vector pGL4.17 vacío se transfectaron en células HeLa. Cuarenta y ocho horas después de la transfección, el medio convencional se reemplazó por medio que contenía 600 µg/ml de G418 (Sigma-Aldrich), las células se mantuvieron en selección G418 y el medio selectivo se reemplazó aproximadamente cada 2-3 días. Después de dos pasajes, se aislaron colonias de células estables, se expandieron y se congelaron para su uso adicional.

Ensayo de indicador de luciferasa doble:

- 20 La proteína celular se extrajo añadiendo 20 µl de Tampón de Lisis Promega (PLB) (Promega) a cada muestra y se incubó durante un período de 15 minutos. El lisado celular se analizó en una placa blanca plana de 96 pocillos (Greiner Bio-One, Reino Unido) donde se añadieron 100 µl de Reactivo II de Ensayo de Luciferasa (LAR II) (Promega) a cada muestra. La luminiscencia se determinó usando el lector de microplacas multimodo Infinite M200 (Tecan Ltd, Männedorf, Suiza). Después de la lectura inicial, se dispensaron 100 µl de reactivo Stop & GloR (Promega) en los pocillos analizados y se analizaron los niveles de luciferasa de Renilla. El ensayo se completó después de que los niveles de luciferasa se normalizaran a los niveles de Renilla.

Detección de alto rendimiento para la identificación de un regulador positivo de SAMD9:

- 30 Los fármacos de prueba se dispensaron a una concentración de 10 µM mediante un sistema robótico en placas de 96 pocillos que contenían 9000 células/pocillo que expresaban la construcción informadora pGL4.17 que llevaba un fragmento del promotor *SAMD9* de 585 pb unido operativamente al gen de la luciferasa o a la construcción luciferasa pGL4.17 vacío (Promega n.º de cat. E6721). El medio se eliminó después de 24 horas y las células se sometieron a ensayo de solución de sustrato de lisis de luciferasa Steady-Glo (Promega) como se describe anteriormente. El manejo de líquidos se realizó con el Tecan (Tecan) Freedom 150 (Robotic & MCA liquid Handling System) y la lectura de luciferasa se realizó con un lector Tecan Infinite® M1000 integrado en un robot.

*EJEMPLO 1**Detección de alto rendimiento para inductores de la expresión de SAMD9*

- 45 La actividad del promotor *SAMD9* se analizó primero usando un ensayo indicador de luciferasa en células HeLa. Un fragmento (SEQ ID NO: 5) que abarcaba 585 pb en dirección 5' hasta el sitio de inicio de la transcripción (TSS) predicho de *SAMD9* se clonó en pGL4 y se cotransfectó con pRL-TK renilla luciferasa (hRLuc) en células HeLa. Cuarenta y ocho (48) horas después de la transfección, la actividad del promotor se determinó midiendo la actividad de la luciferasa. La construcción se ensayó en presencia y ausencia de IFN-γ (10 ng/ml), previamente identificado como un fuerte inductor de la expresión de *SAMD9* [Hershkovitz, D. *et al.* (2011), supra]. IFN-γ indujo significativamente la actividad del promotor de *SAMD9* (Figura 1A). Una línea celular HeLa estable que expresa constitutivamente el gen de la luciferasa de luciérnaga bajo la regulación del fragmento del promotor de *SAMD9* de -585 pb se generó después, que se descubrió que respondía fuertemente a IFN-γ (Figura 1B).

- 55 Esta línea celular se usó después para seleccionar robóticamente un total de 1496 compuestos obtenidos de las bibliotecas de moléculas pequeñas del National Cancer Institute Diversity Set III y del Oncology Drugs Set III. De los 85 compuestos que se encontró que inducen la actividad de luciferasa en la detección inicial, se observó que 31 inducían reproduciblemente la actividad del promotor de *SAMD9* en la línea celular HeLa indicadora en más del doble (véase, Tabla 2, a continuación en el presente documento).

EJEMPLO 2

Efecto de CaCx y ApDx en la expresión de SAMD9 en cultivos de células humanas

La capacidad potencial de estas 31 moléculas para inducir la expresión de SAMD9 en cultivos celulares se escrutó después. Los datos se presentan en la Tabla 2 a continuación en el presente documento. Dos compuestos, 6H-Pirido[4,3-b]carbazol-1-carboxamida, 5,11-dimetil monoclorhidrato (CaCx) y 10-n-propil-1,3-dicloro-7-amino-fenotiazina-5,5-dióxido (ApDx) se encontró que inducían significativamente la expresión de SAMD9 en células HeLa, fibroblastos transformados con TERC y fibroblastos primarios (Figura 1C). Se descubrió que la regulación positiva de SAMD9 mediada por CaCx y ApDx era dependiente tanto de la dosis como del tiempo (Figuras 2A-B). Como observación, cada compuesto mostró una dosis óptima y una curva de tiempo diferentes.

Ambos compuestos significativamente regularon negativamente la expresión de EGR1 en células de fibroblastos primarios, aunque en diferentes momentos (Figura 3).

EJEMPLO 3

Efecto de la administración sistémica de CaCx y ApDx sobre la dermatitis psoriasiforme inducida por imiquimod en ratones

La capacidad de CaCx y ApDx para regular negativamente la expresión de EGR1, un importante mediador de las respuestas inflamatorias en la piel, sugirió que estos compuestos pueden servir como fármacos antiinflamatorios. Esta hipótesis se probó en un modelo murino en el que se indujo dermatitis psoriasiforme usando imiquimod [como se describió anteriormente en Tortola, L. *et al.* (2012) J Clin Invest 122, 3965-76].

Los ratones Balb/c se trataron tópicamente con imiquimod y se inyectaron cinco veces a la semana i.p. con cualquiera del vehículo, 22,5 mg/kg de CaCx o 7,5 mg/kg de ApDx.

Después de 5 días, se obtuvieron biopsias de la piel tratada y se tiñeron para hematoxilina y eosina así como para Ki67 (Figuras 4A-F), como un marcador indirecto de la proliferación celular. El tratamiento con cualquiera de los compuestos dio como resultado una disminución del grosor epidérmico, en el índice de proliferación (Figura 5A) pero no afectó al infiltrado inflamatorio. No se observó toxicidad manifiesta con ninguno de los compuestos.

La PCR cuantitativa demostró una disminución significativa en los niveles de ARN de EGR1 (Figura 5B) y de IL-33 (un marcador inflamatorio importante en la piel, Figura 5C) en piel tratada con CaCx y ApDx.

EJEMPLO 4

Experimento in vivo con ratones quiméricos

Para evaluar el papel terapéutico potencial de los compuestos (ApDx y CaCx) de algunas realizaciones de la divulgación, los dos compuestos se administraron sistémicamente (i.p) a ratones quiméricos que portaban piel psoriásica humana. En resumen, los ratones SCID, de 2-3 meses de edad, se mantuvieron en una instalación para animales libre de patógenos. Se indujo un fenotipo similar a la psoriasis en piel humana normal injertada en ratones mediante inyección intradérmica de linfocitos citotóxicos naturales/linfocitos T derivados de pacientes psoriásicos como se describió anteriormente [Gilhar A *et al.* J Invest Dermatol (2011) 131: 118-124]. Dos semanas después de la inyección de linfocitos citotóxicos naturales/linfocitos T (6 semanas después del injerto de piel humana), a los ratones se les inyectó i.p. cinco veces a la semana. Cuatro grupos de ratones fueron tratados de la siguiente manera: a un grupo de ratones se le inyectó cinco veces a la semana con el vehículo; a un segundo grupo de ratones se le inyectó ApDx cinco veces por semana (5 mg/kg); a un tercer grupo de ratones se le inyectó CaCx cinco veces por semana (15 mg/kg); y un cuarto grupo de ratones, fue tratado con crema de dexametasona (DEX) aplicada 5 veces por semana en el injerto, como control positivo (se esperaba que DEX atenuara la inflamación en este modelo). Cada grupo incluía cinco ratones y el tratamiento se realizó durante un total de 10 días. Los injertos se recolectaron de los cuatro grupos de ratones, se embebieron en parafina, se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E), se analizaron y se puntuaron puntuados para la mejora promedio del fenotipo psoriasiforme clínico e histológico.

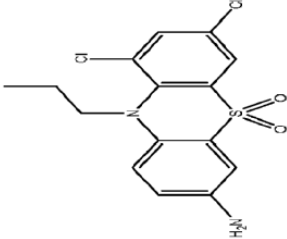
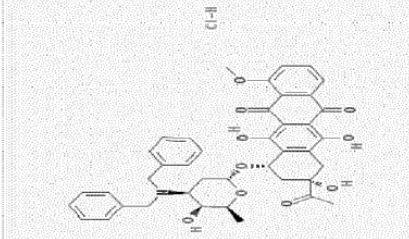
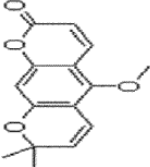
Como se ilustra en la Figura 6, los resultados mostraron que ambos compuestos (ApDx y CaCx) dieron como resultado una atenuación clínica e histológica significativa del fenotipo psoriasiforme (ApDx $p < 0,0001$, CaCx $p < 0,05$). Adicionalmente, las biopsias obtenidas de piel tratada con CaCx o ApDx después de 10 días y teñidas para hematoxilina y eosina, así como para Ki67, como un marcador indirecto de la proliferación celular, ilustraron una disminución significativa en el grosor epidérmico y en la proliferación de queratinocitos en ratones quiméricos que portaban piel psoriásica humana (Figuras 7A-F y Figura 8). No se observó toxicidad manifiesta con ninguno de los compuestos. Por otra parte, la PCR cuantitativa demostró una disminución significativa en los niveles de ARN de EGR1 en la piel tratada con CaCx (Figura 9).

Tomados en conjunto, estos resultados sugieren que las terapias dirigidas a EGR1 pueden servir como alternativa o

complemento de las terapias actuales para las enfermedades inflamatorias de la piel hiperproliferativas.

Ninguno de los compuestos de la tabla 2 es parte de la invención.

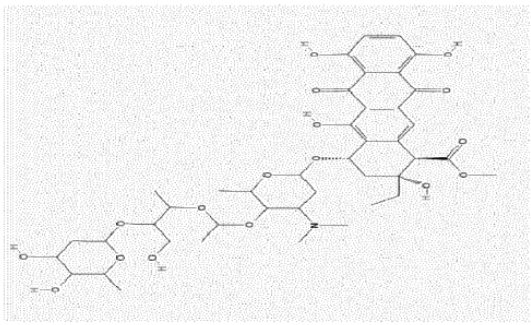
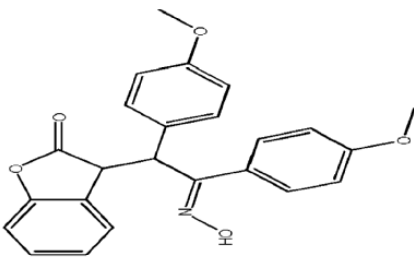
Tabla 2: Validación de datos de expresión génica

ID del Compuesto	Nombre del compuesto	Estructura química	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en el ensayo indicador HeLa**	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en células HeLa***
629971	7,9-dicloro-5,5-dioxo-10-propilfenotiazin-3-amina (ApDx)		4,85	20,5
268242	Clorhidrato de N,N-dibencildaunorrubicina		4,84	3,66
622589	3,3'-[4-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1,2,4-ditiazolidin-3,5-diiliden]bis[1,1-dimetil(tiourea)]		4,32	1,17
35542	Xantoxilina N		4,08	4,71

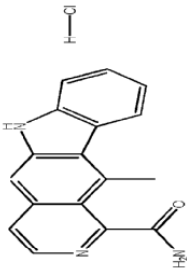
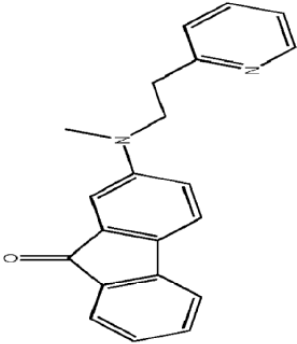
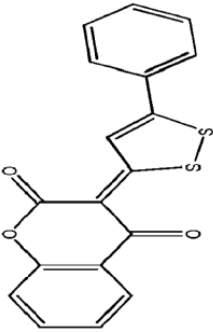
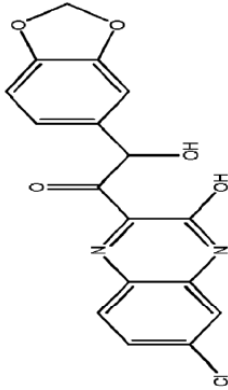
(continuación)

ID del Compuesto	Nombre del compuesto	Estructura química	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en el ensayo indicador HeLa**	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en células HeLa***
637993	clorhidrato de 5-{{[2-(dietilamino)etil]amino}-8-metoxi-1-metil-6h-imidazo[4,5,1-de]acridin-6-ona (1:1)}		3,7	6,34
26040	1-Piperidinetanol, α-[p-(p-cloroestiril)fenilo]		3,38	1,2

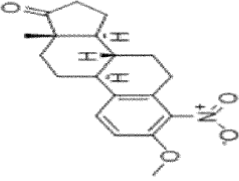
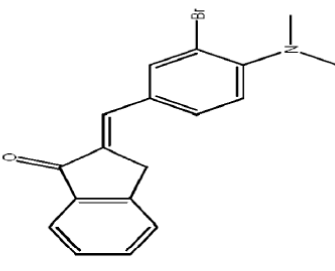
(continuación)

ID del Compuesto	Nombre del compuesto	Estructura química	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en el ensayo indicador HeLa**	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en células HeLa***
265211	Rodirrubina E		3,36	1,47
641607	3-(2-(Hidroxiimino)-1,2-bis(4-metoxifenil)etil)-1-benzofuran-2(3H)-ona		3,25	1,27

(continuación)

ID del Compuesto	Nombre del compuesto	Estructura química	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en el ensayo indicador HeLa**	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en células HeLa***
335142	6H-Pirido[4,3-b]carbazol-1-carboxamida, 5,11-dimetil-, monoclóridato (CaCx)		2,95	6,44
24048	2-(metil(2-(2-piridinil)etil)amino)-9H-fluoren-9-ona		2,84	1,62
293927	(3E)-3-(5-fenil-3H-1,2-ditio-3-iliden)-2H-cromen-2,4(3H)-diona		2,82	1,77
642649	2-(1,3-Benzodioxol-5-il)-1-(6-cloro-3-hidroxi-2-quinoxalini)-2-hidroxitanona		2,8	0,85

(continuación)

ID del Compuesto	Nombre del compuesto	Estructura química	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en el ensayo indicador HeLa**	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en células HeLa***
623051	4-(1,3-Benzoxazol-2-il)-1-(4-cloro-2-metilfenil)-2,3,5,6-piperidintetrona		2,74	0,97
302358	Piperidinio, 1-[4-(4-metoxifenil)-1,3-ditio-2-iliden]-, sulfato (1:1)		2,72	0,84
321803	4-Nitroestrone 3-metil éter		2,71	ND
643163	2-(3-Bromo-4-dimetilaminobenciliden)-1-indanona		2,64	0,79

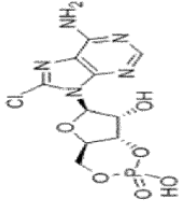
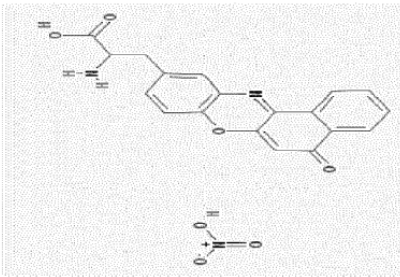
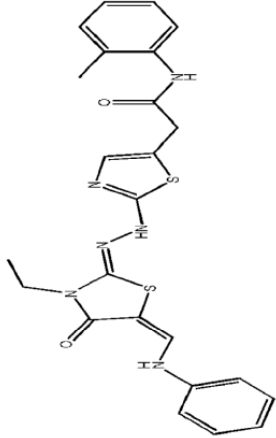
(continuación)

ID del Compuesto	Nombre del compuesto	Estructura química	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en el ensayo indicador HeLa**	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en células HeLa***
681730	2,2'-(1,3-fenilenbis(metilen))bis(azanoditriilo)bis(2-fenilacetoneitrilo)		2,48	1,6
643175	2-(3,4-dimetoxibenciliden)-1-tetralona		2,47	0,89
337851	Predefina		2,37	1,23
640637	3-Fenilacrilaldehído N'-(5,6-difenil-1,2,4-triazin-3-il)-N-feniltiosemicarbazona		2,32	1,16

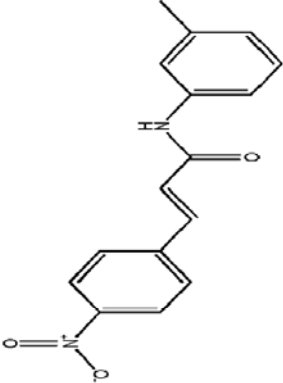
(continuación)

ID del Compuesto	Nombre del compuesto	Estructura química	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en el ensayo indicador HeLa**	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en células HeLa***
314622	5H-[1,3]Dioxolo[5,6]indeno[1,2-c]isoquinolin-5, 12-diona, 2,3-dimetoxi-6-metil-		2,31	2,51
604535	Ácido (2R)-1-[(2R)-2-metil-3-fenilcarbonilsulfanilpropanoil]-2,3-dihidroindo[1,2-carboxílico		2,26	1,07
163443	Benzoato de 2-(5,11-dimetil-6H-pirido[4,3-b]carbazol-6-il)etilo		2,24	6,49
126771	Diclorolawsona		2,23	3,27
643174	2-(3,4-Dimetoxibenciliden)-1-indanona		2,17	1,29

(continuación)

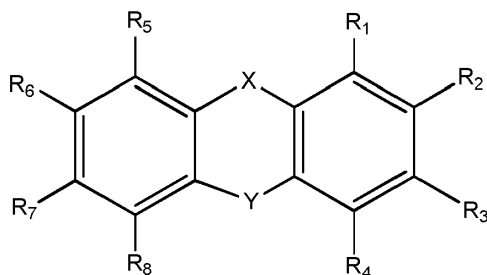
ID del Compuesto	Nombre del compuesto	Estructura química	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en el ensayo indicador HeLa**	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en células HeLa***
284751	Adenosina, 8-cloro, 3',5'-(hidrogenofosfato) cíclica		2,14	0,87
601101	Clorhidrato de 2-(2-(2-(1,2-bencisoxazol-3-il)vinil)fenoxi)-N,N-dietiletanamina		2,13	ND
672425	Sal de nitrato de 1,2-benzo-8-(L-alanil)-3-fenoxazona		2,11	0,98
658350	2-(2-(2-(5-(Anilino)metileno)-3-etil-4-oxo-1,3-tiazolidin-2-ilideno)hidrazino)-1,3-tiazol-5-il)-N-(2-metilfenil)acetamida		2,03	1,01

(continuación)

ID del Compuesto	Nombre del compuesto	Estructura química	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en el ensayo indicador HeLa**	Factor de multiplicación de la expresión de SAMD9 en células HeLa***
139109	N-(3-metilfenil)-3-(4-nitrofenil)acrilamida		2,03	0,72
* ND: no determinado ** Factor de multiplicación en la actividad del promotor evaluada por el ensayo de luciferasa en comparación con las células tratadas solo con vehículo *** Factor de multiplicación en la expresión génica de ARN en comparación con las células tratadas solo con vehículo				

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la Fórmula I:



Fórmula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en donde:

X es N-R₉;

Y está ausente;

R₉ es hidrógeno o alquilo;

R₁-R₄ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo o, como alternativa o además, dos de R₁-R₄ y R₉ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico,

R₅-R₈ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo, en donde dos de R₅-R₈ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico,

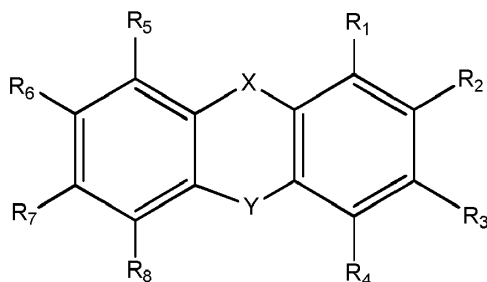
para su uso en el tratamiento de la inflamación de la piel en un sujeto que lo necesite.

2. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, en donde la inflamación de la piel se selecciona del grupo que consiste en una dermatitis atópica, una dermatitis de contacto, una dermatitis herpetiforme, una dermatitis exfoliativa generalizada, una dermatitis seborreica, una psoriasis, una erupción por fármacos, un eritema multiforme, un eritema nodoso, un granuloma anular, una hiedra venenosa, un roble venenoso, una necrólisis epidérmica tóxica, un acné y una rosácea.

3. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, en donde la inflamación de la piel es psoriasis.

4. El compuesto para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el compuesto se usa en combinación con un agente antiinflamatorio.

5. Un artículo de fabricación que comprende un compuesto representado por la Fórmula I:



Fórmula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en donde:

X es N-R₉;

Y está ausente;

R₉ es hidrógeno o alquilo;

R₁-R₄ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo o, como alternativa o además, dos de R₁-R₄ y R₉ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico;

R₅-R₈ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo, en donde dos de R₅-R₈ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico,

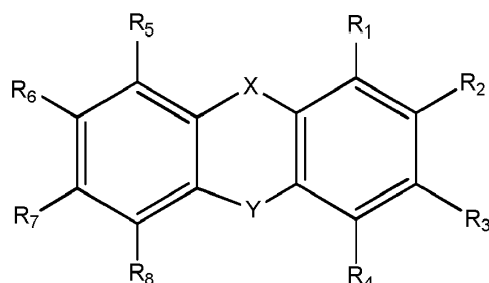
y un agente antiinflamatorio, estando envasado en un material de envasado, siendo el artículo de fabricación para su uso en el tratamiento de la inflamación de la piel.

6. El artículo de fabricación para su uso de la reivindicación 5, en donde dicho compuesto representado por la Fórmula I y dicho agente antiinflamatorio están en recipientes separados o en una co-formulación.

7. El artículo de fabricación para su uso de la reivindicación 5 o 6, en donde la inflamación de la piel se selecciona del grupo que consiste en una dermatitis atópica, una dermatitis de contacto, una dermatitis herpetiforme, una dermatitis exfoliativa generalizada, una dermatitis seborreica, una psoriasis, una erupción por fármacos, un eritema multiforme, un eritema nodoso, un granuloma anular, una hiedra venenosa, un roble venenoso, una necrólisis epidérmica tóxica, un acné y una rosácea.

8. El artículo de fabricación para su uso de la reivindicación 5 o 6, en donde la inflamación de la piel es psoriasis.

9. Un compuesto representado por la Fórmula I:



Fórmula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

X es N-R₉;

Y está ausente;

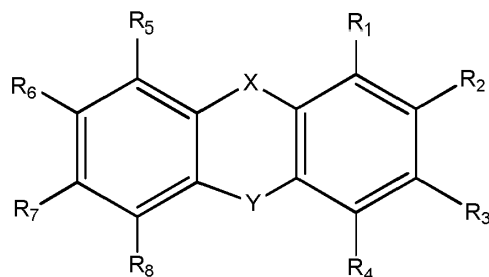
R₉ es hidrógeno o alquilo;

R₁-R₄ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo o, como alternativa o además, dos de R₁-R₄ y R₉ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico;

R₅-R₈ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo o, alternativamente o además, dos de R₅-R₈ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico,

para su uso en el tratamiento de un cáncer calcificado.

10. Un artículo de fabricación que comprende un compuesto representado por la Fórmula I:



Fórmula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

X es N-R₉;

Y está ausente;

R₉ es hidrógeno o alquilo;

R₁-R₄ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo o, como alternativa o además, dos de R₁-R₄ y R₉ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico;

5

R₅-R₈ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, halo, trihaloalquilo, amino, alcoxi, tioalcoxi, hidroxilo, tiol, nitro, ciano, arilo o heteroarilo, en donde dos de R₅-R₈ forman juntos un anillo cíclico, seleccionándose dicho anillo cíclico de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heteroalíclico,

10

y un agente quimioterapéutico, estando envasado en un material de envasado, siendo el artículo de fabricación para su uso en el tratamiento de un cáncer calcificado.

11. El artículo de fabricación para su uso de la reivindicación 10, en donde dicho compuesto representado por la Fórmula I y dicho agente quimioterapéutico están en recipientes separados o en una co-formulación.

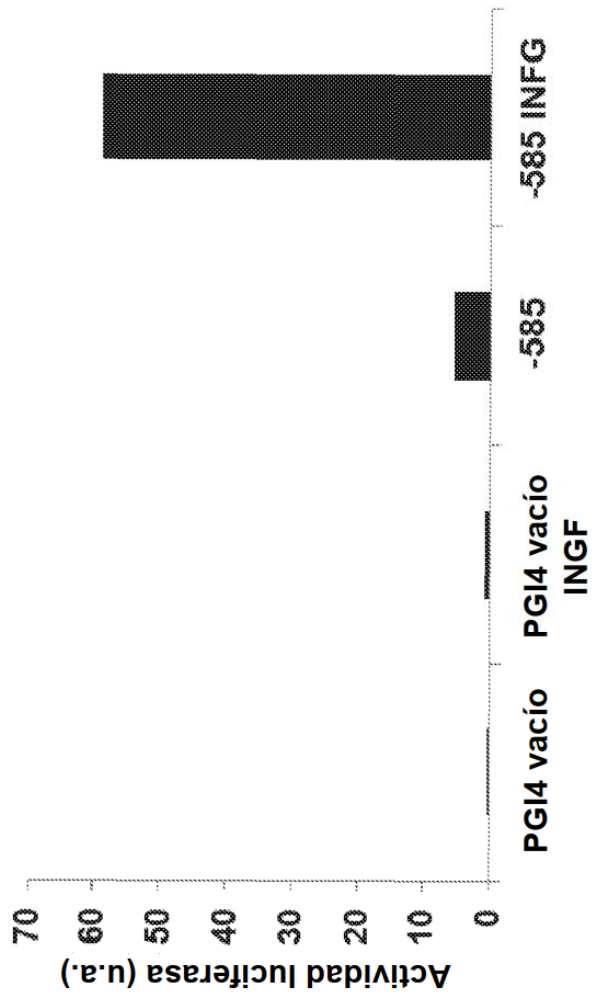


FIG. 1A

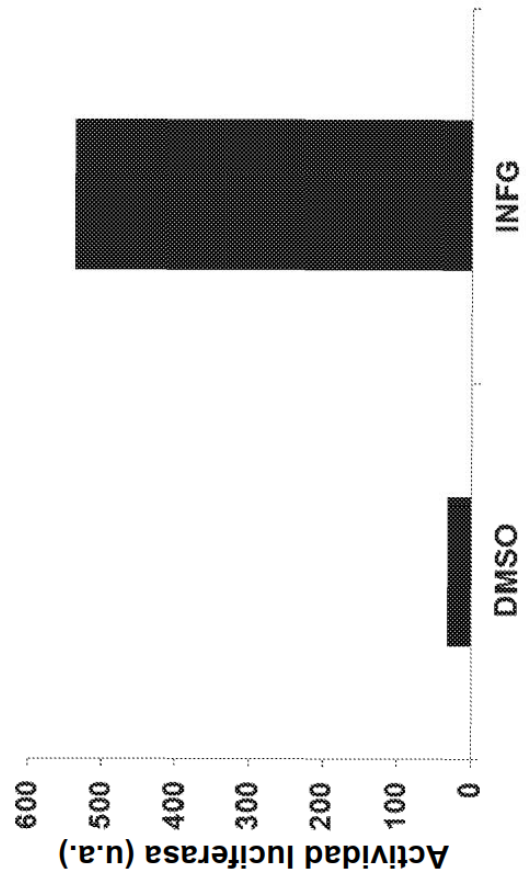


FIG. 1B

FIG. 1C

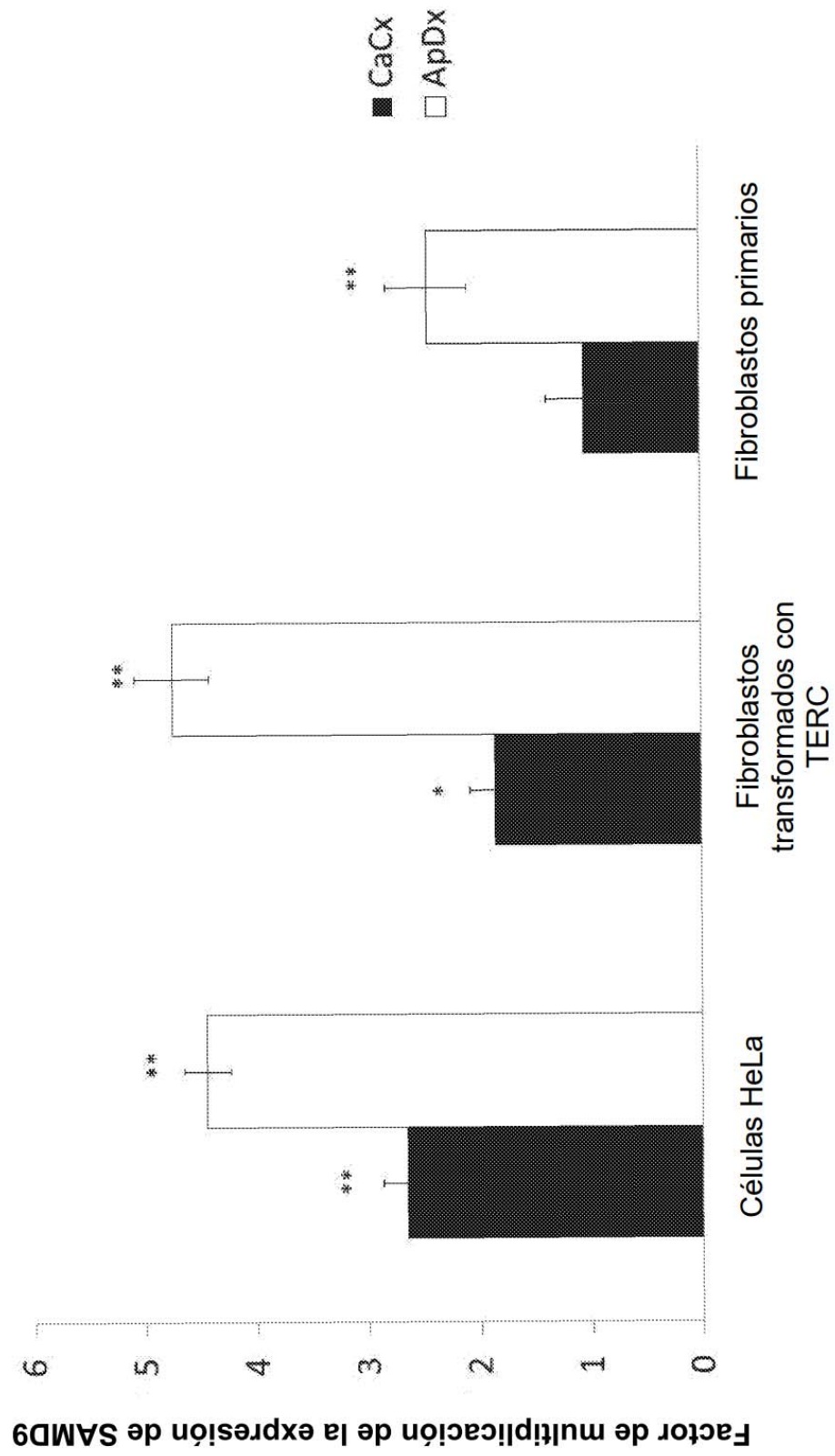


FIG. 2A

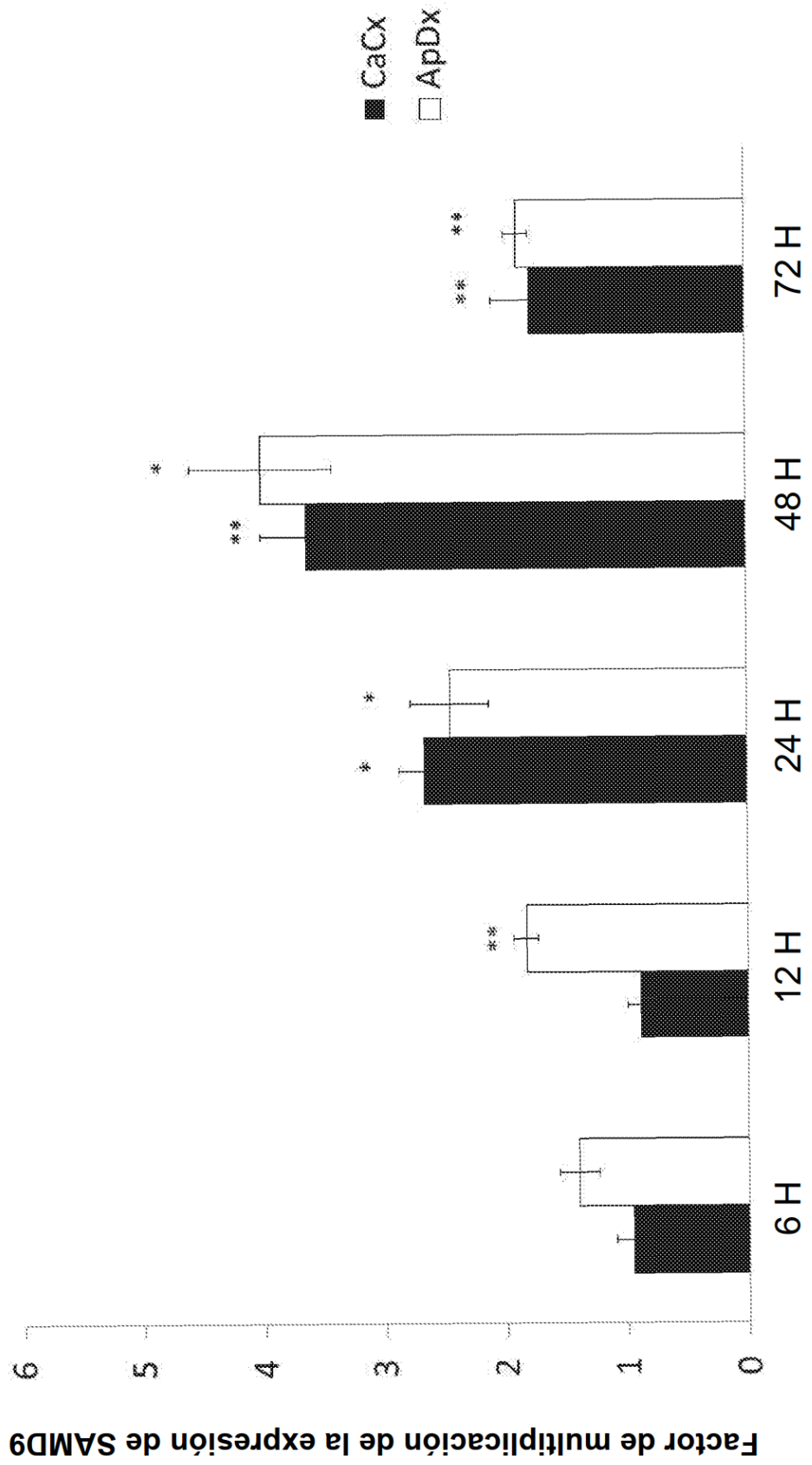


FIG. 2B

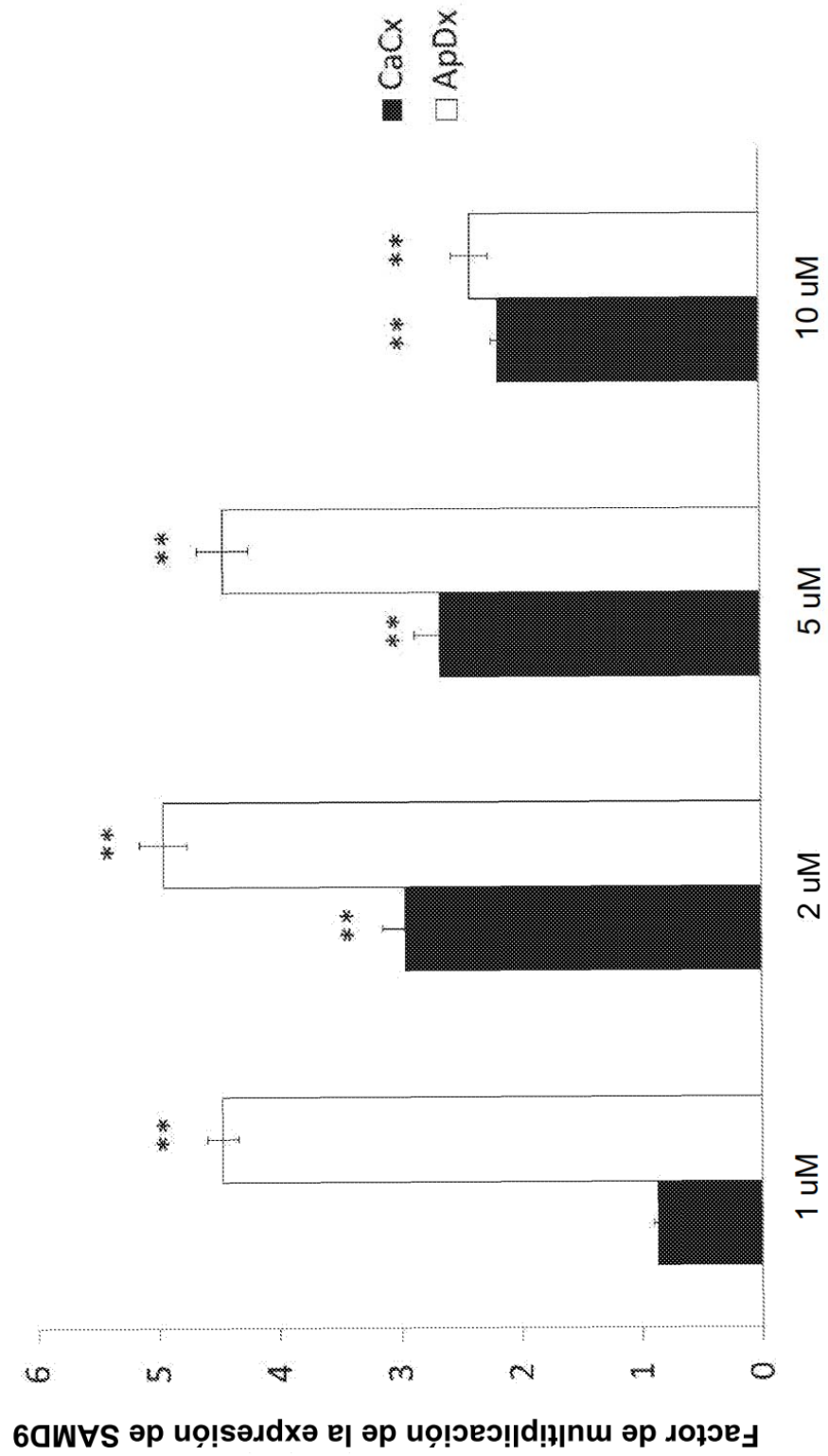


FIG. 3

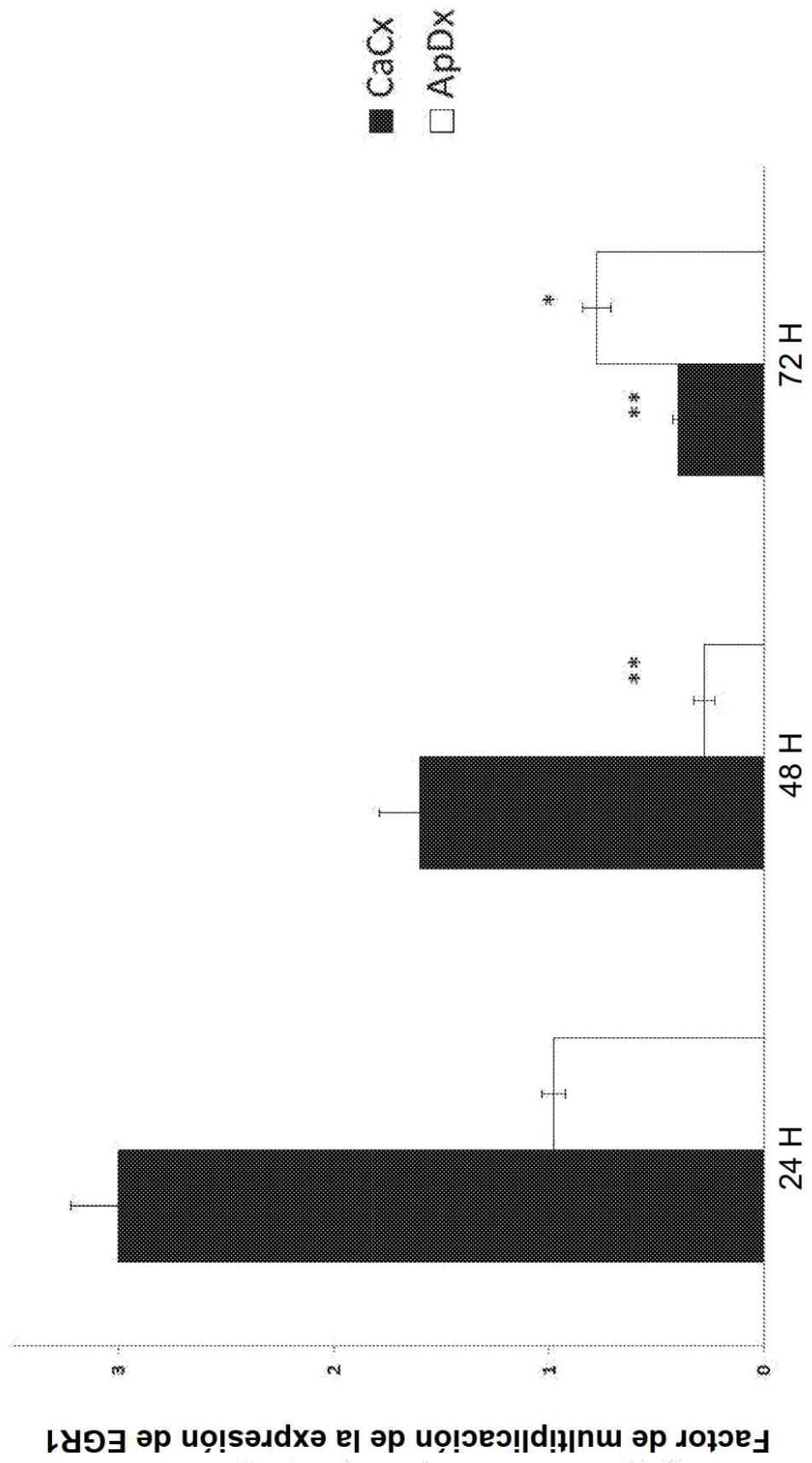


FIG. 4A

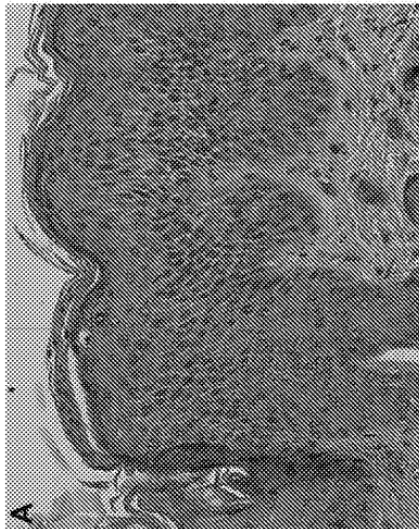


FIG. 4B



FIG. 4C



FIG. 4D

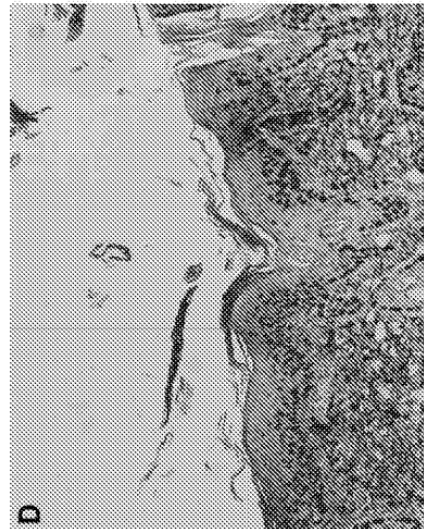


FIG. 4E

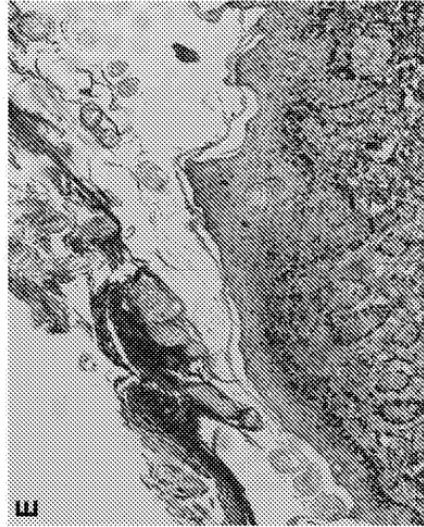


FIG. 4F

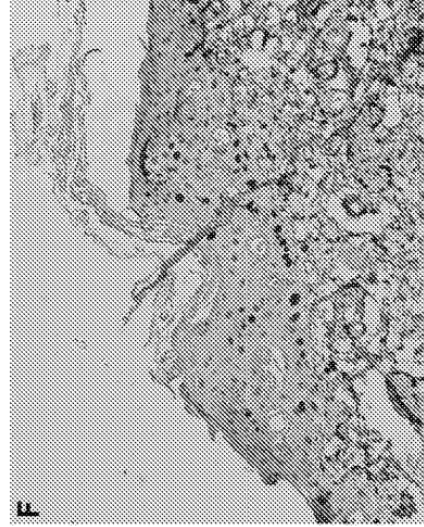


FIG. 5A

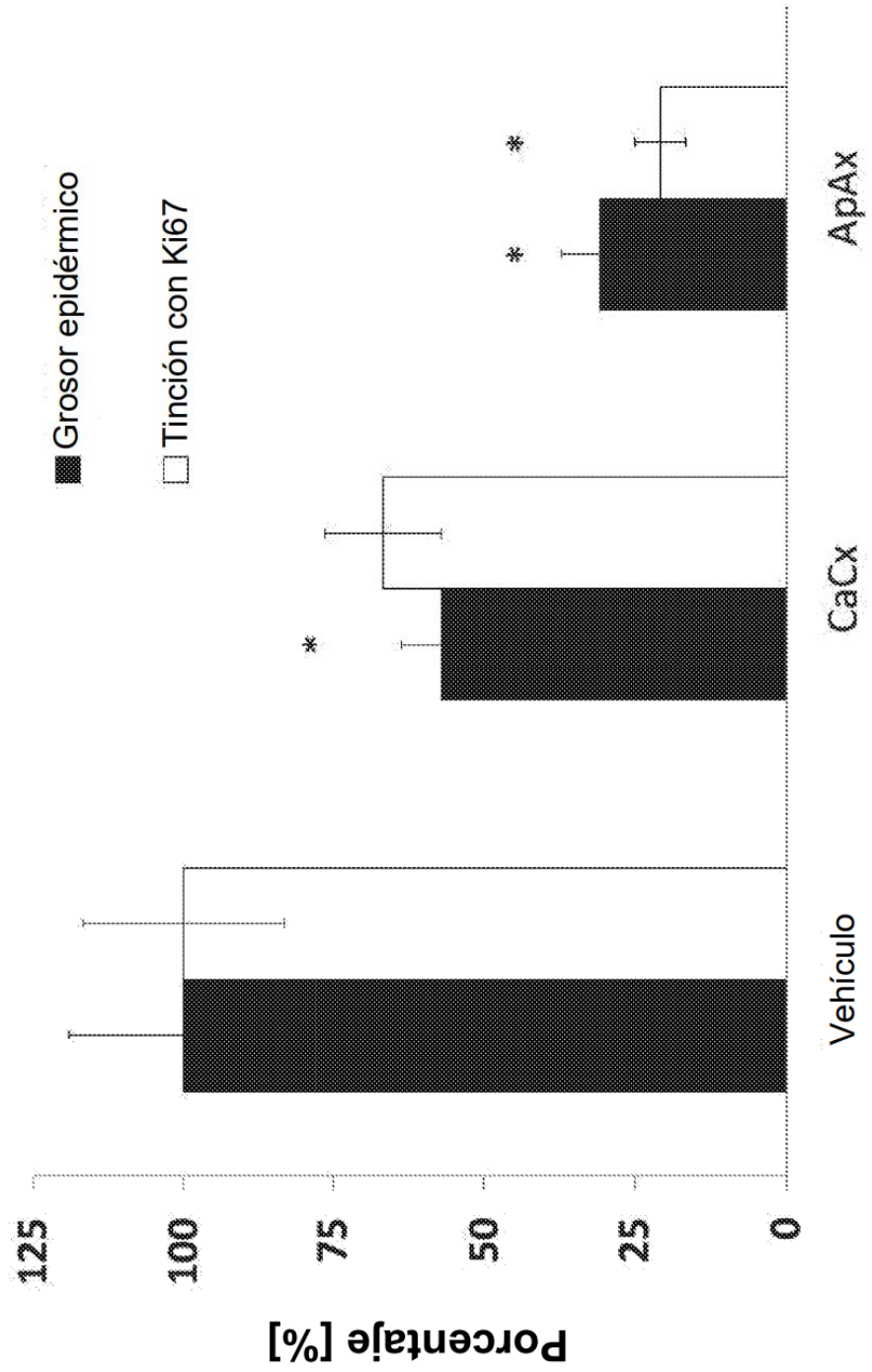


FIG. 5B

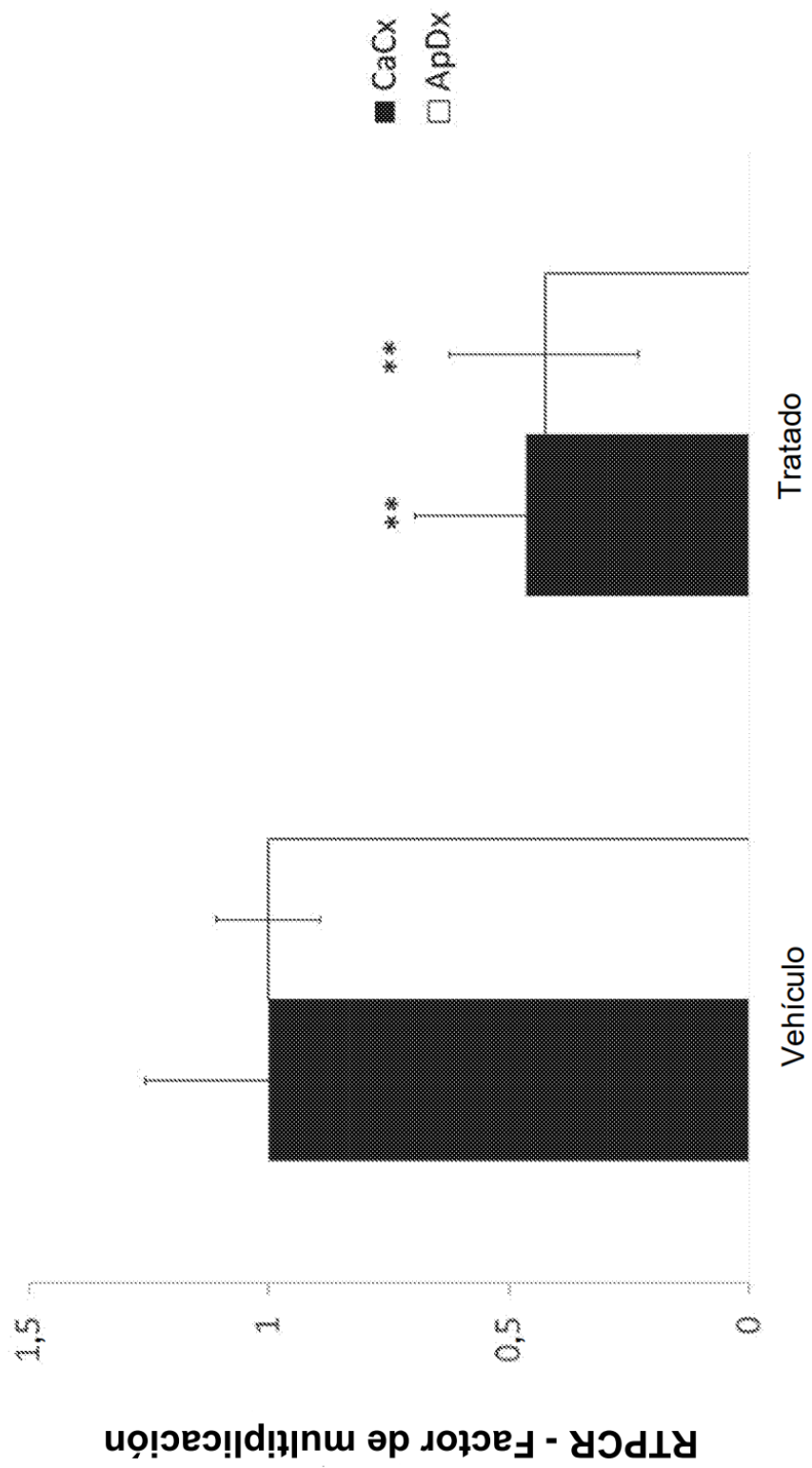


FIG. 5C

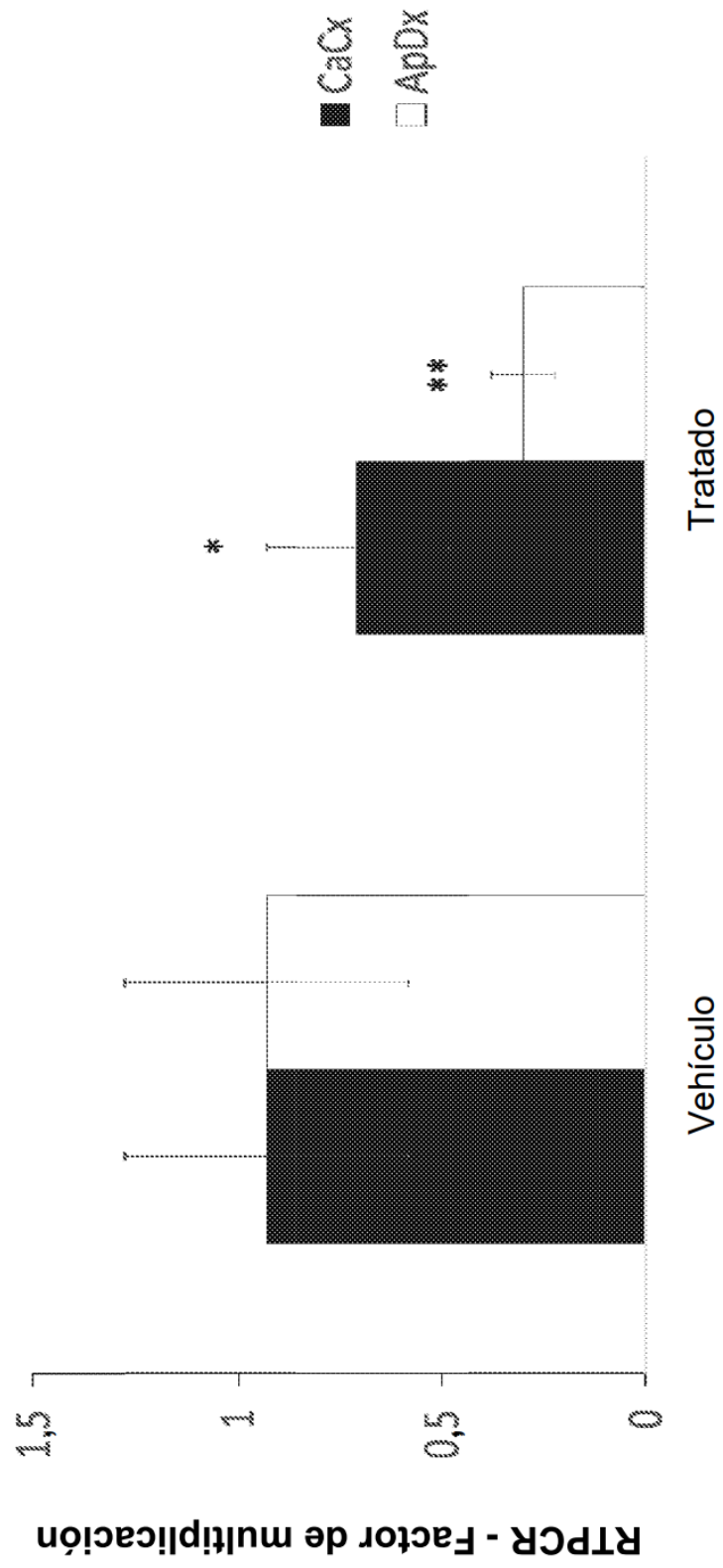
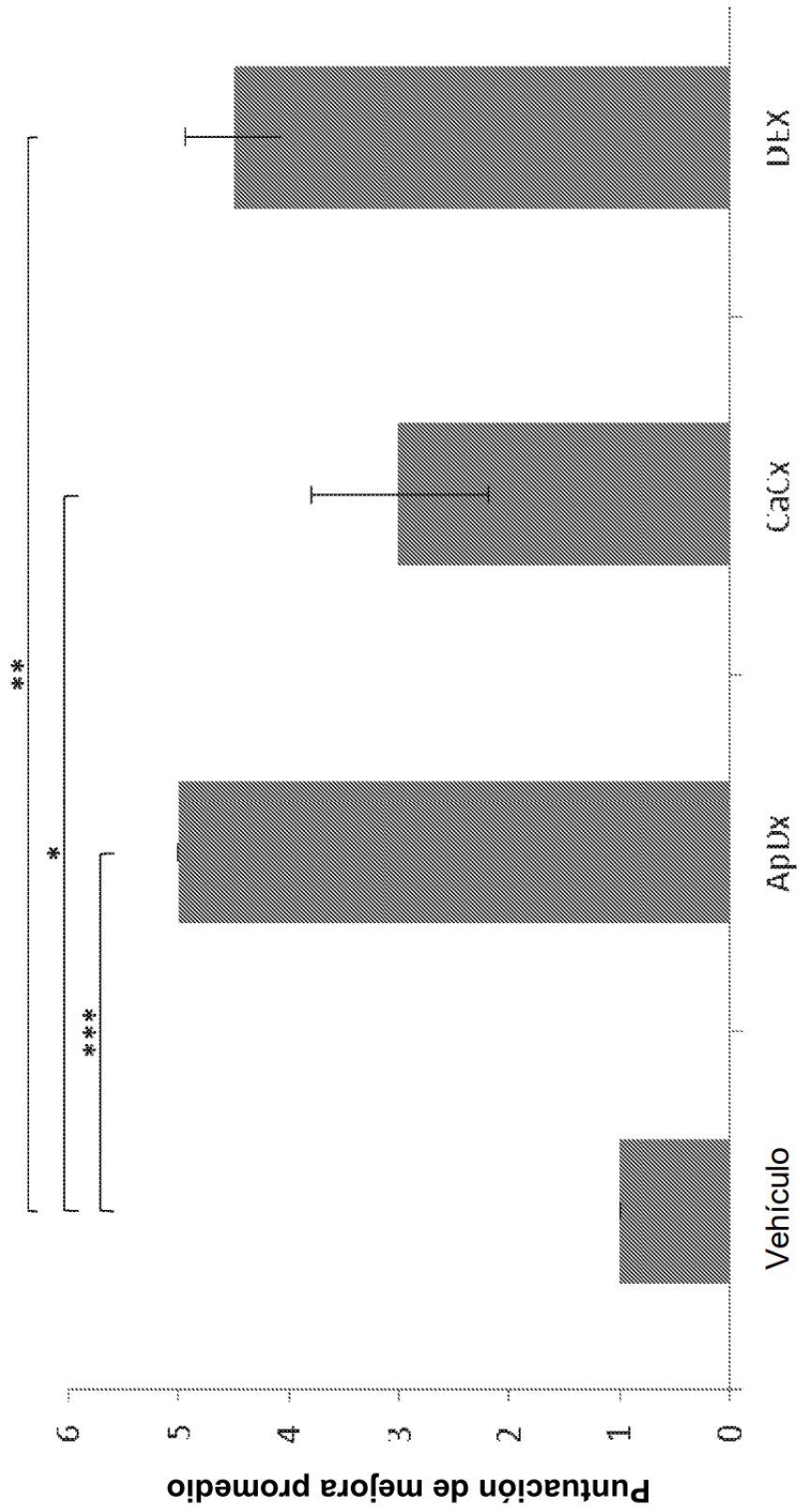
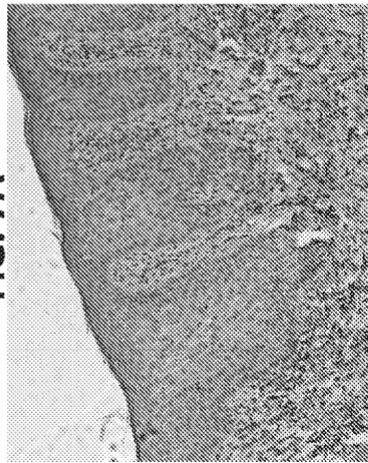


FIG. 6



Vehículo

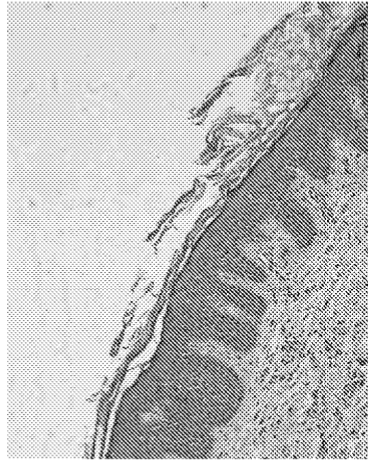
FIG. 7A



H&E

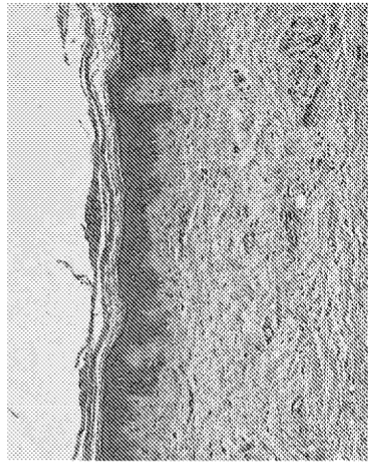
CaCx

FIG. 7B



ApDx

FIG. 7C



Ki67

FIG. 7D

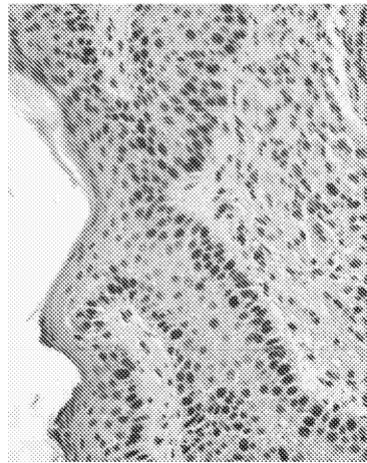


FIG. 7E

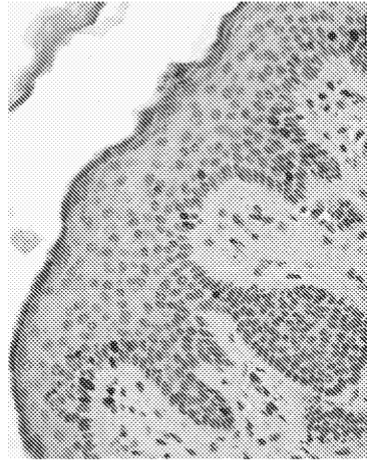


FIG. 7F

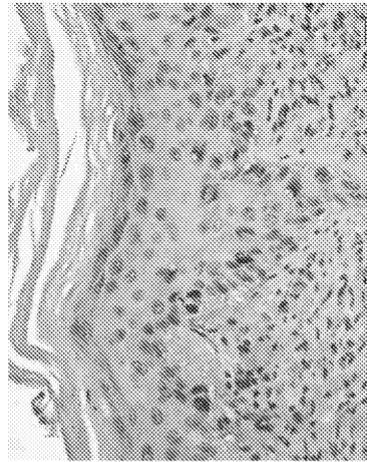
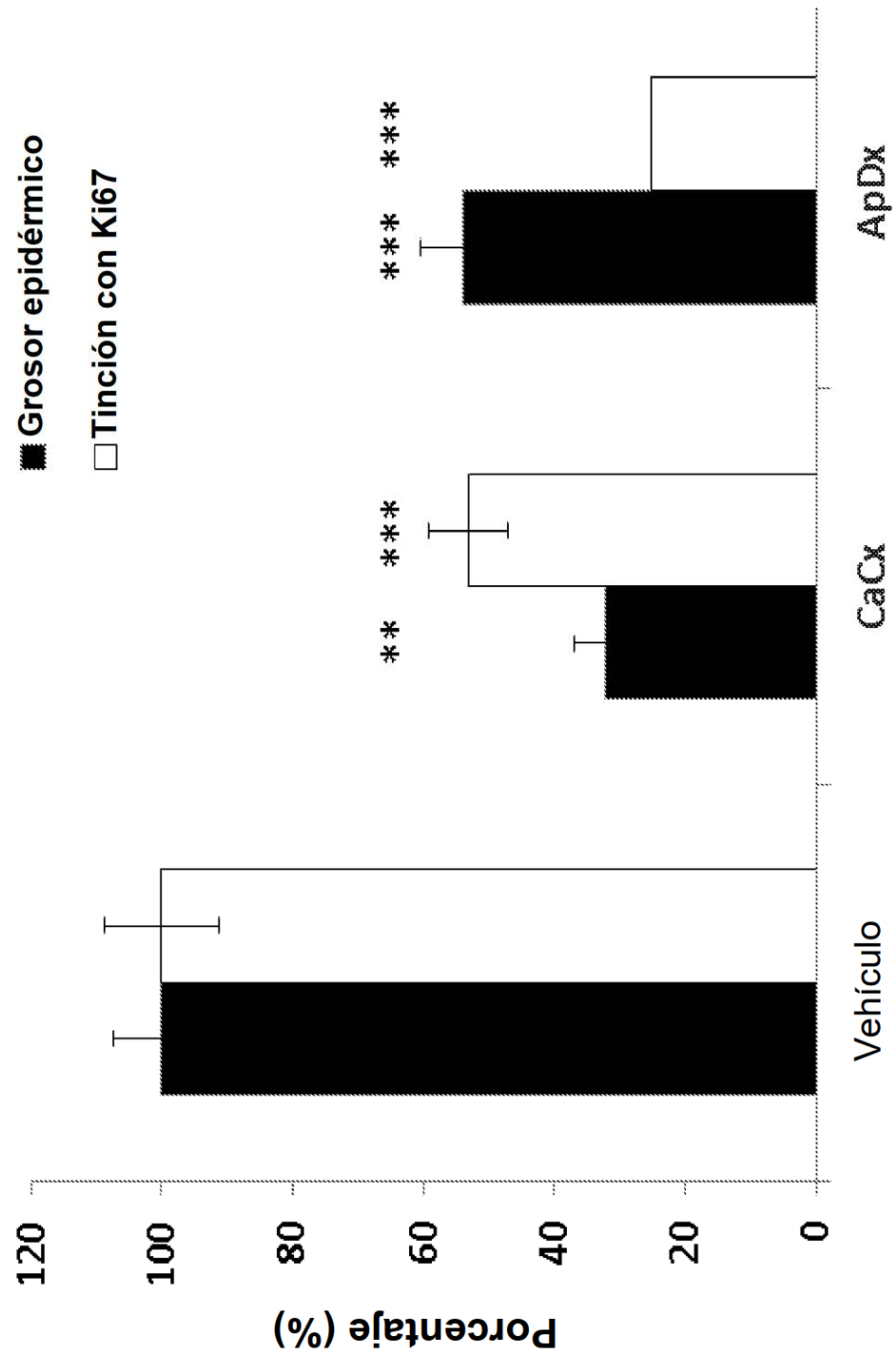


FIG. 8



** Valor de $P < 0,01$, *** Valor de $P < 0,005$

FIG. 9

