

FORMULACIÓN DEL INHIBIDOR STAT3

REFERENCIA CRUZADA CON UNA SOLICITUD RELACIONADA

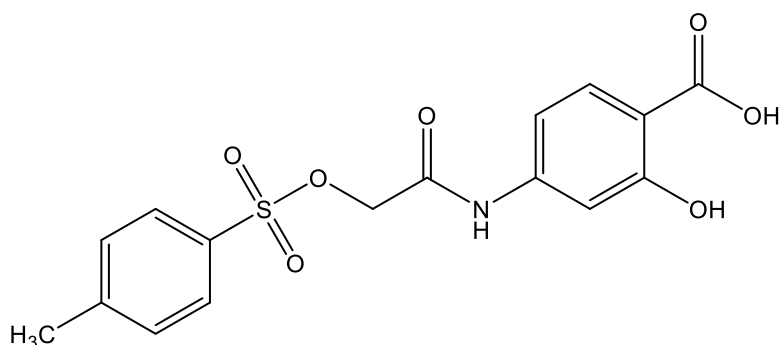
[0001] Esta solicitud de patente reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos No. 62/481,960 presentada el 05 de abril de 2017, la cual se incorpora por referencia en su totalidad para todos los fines.

DECLARACIÓN RESPECTO A LA INVESTIGACIÓN O DESARROLLO AUSPICIADO FEDERALMENTE

[0002] Esta invención ha sido preparada con el apoyo del gobierno bajo el número de proyecto 110775.05.015.04 (A) por el Instituto Nacional de Salud y el Instituto Nacional de Cáncer. El gobierno tiene ciertos derechos en esta invención.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0003] El compuesto ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] (también conocido como ácido benzoico 2-hidroxi-4-(2-(tosiloxi)acetamido)):



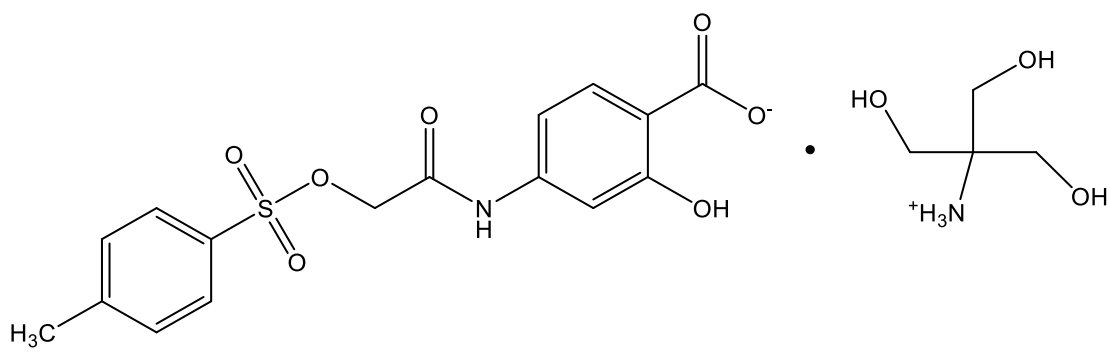
es conocido en la técnica coloquialmente como NSC-74859 y S3I-201 y es un potente inhibidor de transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) de la actividad de enlace a ADN de (IC_{50} de $86 \pm 33 \mu M$ *in vitro*). En particular, el ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] induce apoptosis en células tumorales que expresan STAT3 activado. Como resultado, se ha demostrado que el ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] es efectivo para el tratamiento de diversos tipos de

cáncer. Sin embargo, el ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] es deficientemente soluble en agua y etanol, por lo que la administración práctica de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] no es posible de manera fácil.

[0004] Por lo tanto, aún existe una necesidad no cubierta para las formulaciones mejoradas que contienen ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] como un agente activo que proporciona un método para prevenir o tratar cáncer con una administración mejorada y eficaz.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

[0005] La invención proporciona una nueva sal de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino], que es difícilmente soluble en agua para proporcionar composiciones farmacéuticas solubles. En particular, la invención proporciona un compuesto de la fórmula:



que está designado como “Compuesto 1” en el presente.

[0006] La invención además proporciona una composición farmacéutica que comprende el Compuesto 1 y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0007] También se proporcionan métodos para tratar el cáncer, que incluyen prevenir y tratar el cáncer con una composición farmacéutica que comprende el Compuesto 1.

BREVE DESCRIPCION DE LAS DIVERSAS VISTAS DE LOS DIBUJOS

[0008] La FIG. 1 es una serie de cromatogramas de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) que ilustran la estabilidad de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] en presencia ya sea de LiOH (FIG. 1A), NaOH (FIG. 1B),

K₂CO₃ (FIG. 1C), o 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanediol (FIG. 1D) en agua. Bajo las condiciones usadas para generar los datos, el ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] se eluye a 8.6 minutos.

[0009] La FIG. 2 es un esquema de reacción que ilustra la degradación de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] mediante la pérdida del grupo tosilato.

[0010] La FIG. 3 es un esquema químico que ilustra una síntesis del Compuesto 1 en una materialización física de la invención.

[0011] La FIG. 4 es un gráfico de barras que muestra la capacidad de una solución acuosa del Compuesto 1 para inhibir la expresión de Ki67 en una glándula mamaria normal de ratón hembra con virus del tumor mamario del ratón (MMTV)/neu a diversas dosis (500 mg/kg de peso corporal/día, 250 mg/kg de peso corporal/día, ó 125 mg/kg de peso corporal/día) en comparación con un control (sin administración) después de dos semanas de tratamiento.

[0012] La FIG. 5 es un gráfico de barras que muestra la capacidad de una solución acuosa del Compuesto 1 para inhibir la expresión de STAT3 en una glándula mamaria normal de ratones hembra con virus del tumor mamario del ratón (MMTV)/neu a diversas dosis (500 mg/kg de peso corporal/día, 250 mg/kg de peso corporal/día ó 125 mg/kg de peso corporal/día) en comparación con un control (sin administración) después de dos semanas de tratamiento.

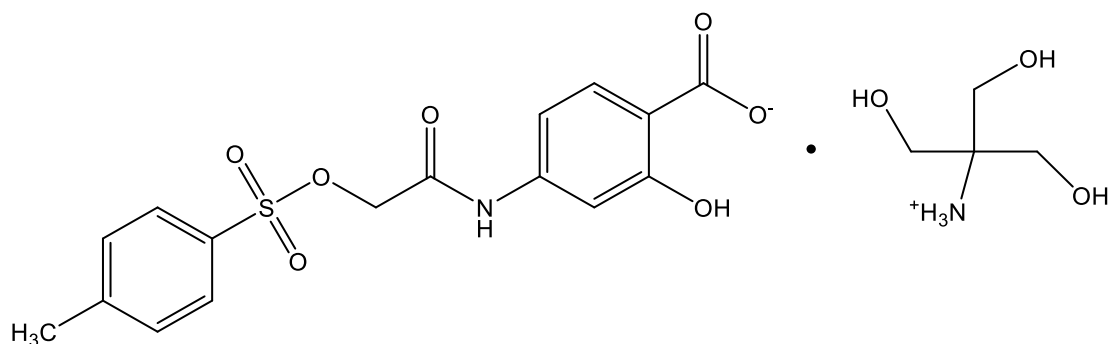
[0013] La FIG. 6 es un gráfico que demuestra los efectos de diversas dosis del Compuesto 1 en el aumento del peso corporal (gramos) en el transcurso del tiempo (días de edad) de ratones hembra con virus del tumor mamario del ratón (MMTV)/neu durante un estudio de quimioprevención. El Compuesto 1 se administró a los ratones de 50 días de edad hasta el término del estudio (tratamiento de 4 meses). Las dosis administradas fueron 500 mg/kg de peso corporal/día (●), 250 mg/kg de peso corporal/día (■), y 125 mg/kg de peso corporal/día (▲), en relación con el control que no recibió el fármaco (◆).

[0014] La FIG. 7 es un gráfico que demuestra los efectos de diversas dosis del Compuesto 1 en la aparición del cáncer de mama inducido por dimetilbenzantraceno (DMBA) en ratones hembras con virus del tumor mamario del ratón (MMTV)/neu en el transcurso del tiempo (días). El Compuesto 1 se administró a los ratones de 50 días de edad hasta el término del estudio (tratamiento de 4 meses). Las dosis administradas fueron 500 mg/kg de peso

corporal/día (●), 250 mg/kg de peso corporal/día (■), and 125 mg/kg de peso corporal/día (▲), en relación con el control que no recibió el fármaco (◆).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0015] La invención proporciona un compuesto de la fórmula



Compuesto 1.

[0016] El Compuesto 1 es una sal de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[(4-metilfenil)sulfonyl]oxi]acetil]amino] con 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanediol que sorpresivamente se descubrió que era altamente soluble en agua y capaz de proporcionar una formulación transparente con estabilidad mejorada.

[0017] La Patente de los Estados Unidos 7,960,434 describe ampliamente sales de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[(4-metilfenil)sulfonyl]oxi]acetil]amino]. Sin embargo, la Patente de los Estados Unidos 7,960,434 no divulga ni sugiere preparar una sal de 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanediol.

[0018] El Compuesto 1 puede ser amorfo, cristalino, o semi-cristalino. Como se usa en el presente, el término “cristalino” se refiere a un material con una estructura ordenada y que tiene un marcado punto de fusión y que permanece sólido con el aumento de la temperatura hasta el punto de fusión, en que se forma un líquido de baja viscosidad. El término “amorfo” se refiere a un material que tiene una estructura aleatoria (por ejemplo, sin un orden repetitivo), en donde “semi-cristalino” se refiere a un material que tiene una combinación tanto de la parte cristalina como de la parte amorfa. En ciertas materializaciones físicas, el Compuesto 1 es cristalino.

[0019] Para que un método de tratamiento sea altamente efectivo, el Compuesto 1 se deberá usar en una forma tan pura como sea posible. Las técnicas de purificación son conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, cristalización, extracción, filtración, cromatografía,

destilación y sublimación. La pureza del Compuesto 1 se puede someter a prueba midiendo, por ejemplo, el punto de fusión. Típicamente, el Compuesto 1 es al menos 85% puro (por ejemplo, al menos 90% puro, al menos 92% puro, al menos 95% puro, al menos 96% puro, al menos 97% puro, al menos 98% puro, o al menos 99% puro). En ciertos aspectos de la invención, el Compuesto 1 es al menos 98% puro.

[0020] El compuesto base, ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[(4-metilfenil)sulfonyl]oxy]acetyl]amino], se puede adquirir comercialmente o se puede preparar usando los procedimientos químicos de rutina. Ver, por ejemplo, la síntesis que se menciona en el Esquema 1 de la Patente de los Estados Unidos 7,960,434, cuya divulgación se incorpora por referencia.

[0021] 2-Amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanediol se encuentra comercialmente disponible y se conoce como, por ejemplo, TRIZMA™ o Tris base (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

[0022] Los métodos que se describen en el presente comprenden administrar el Compuesto 1 en la forma de una composición farmacéutica. En particular, una composición farmacéutica comprende una cantidad efectiva del Compuesto 1 y un portador farmacéuticamente aceptable. Los excipientes farmacéuticamente aceptables que se describen en el presente, por ejemplo, vehículos, adyuvantes, portadores, o diluyentes, son bien conocidos para los expertos en la técnica y están fácilmente disponibles. Típicamente, el portador farmacéuticamente aceptable es químicamente inerte al(a los) compuesto(s) activo(s) y no tiene efectos secundarios perjudiciales o toxicidad bajo las condiciones de uso.

[0023] Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar en forma oral, sublingual, transdérmica, subcutánea, tópica, absorción a través del revestimiento epitelial o mucocutáneo, intravenosa, intranasal, intraarterial, intramuscular, intratumoral, peritumoral, interperitoneal, intratecal, rectal, vaginal, o formulaciones en aerosol. En algunos aspectos, la composición farmacéutica se administra por vía oral o intravenosa. Preferiblemente, la composición farmacéutica es una formulación oral.

[0024] De acuerdo con cualquier aspecto de las materializaciones físicas, el Compuesto 1 puede administrarse oralmente a un sujeto que lo necesite. Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden consistir en (a) soluciones líquidas, como una cantidad efectiva del compuesto disuelto en diluyentes, como agua, solución salina o jugo de naranja y pueden

incluir un aditivo, como la ciclodextrina (por ejemplo, α -, β - o γ -ciclodextrina, hidroxipropil ciclodextrina) o polietilenglicol (por ejemplo, PEG400); (b) cápsulas, sobres, tabletas, pastillas y comprimidos, cada uno contiene una cantidad predeterminada del ingrediente activo, como sólidos o gránulos; (c) polvos; (d) suspensiones en un líquido apropiado; y (e) emulsiones y geles adecuados.

[0025] Las formulaciones líquidas pueden incluir diluyentes, tales como agua y alcoholes, por ejemplo, etanol, alcohol bencílico y los alcoholes de polietileno, con o sin la adición de un surfactante, agente de suspensión o agente emulsionante farmacéuticamente aceptable. En algunas materializaciones físicas, el portador farmacéuticamente aceptable comprende etanol, agua o una combinación de etanol y agua. Preferiblemente, el portador farmacéuticamente aceptable comprende agua. En ciertos aspectos, la composición farmacéutica es una solución transparente (por ejemplo, una solución acuosa transparente).

[0026] Las formas de cápsula pueden ser del tipo común de gelatina de capa blanda o de capa dura que contiene, por ejemplo, surfactantes, lubricantes y rellenos inertes, tales como lactosa, sacarosa, fosfato de calcio y almidón de maíz. Las formas de tableta pueden incluir uno o más de lactosa, sacarosa, manitol, almidón de maíz, almidón de papa, ácido algínico, celulosa microcristalina, acacia, gelatina, goma guar, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa de sodio, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de zinc, ácido esteárico y otros excipientes, colorantes, diluyentes, agentes amortiguadores, agentes desintegrantes, agentes humectantes, preservantes, agentes saborizantes y portadores farmacológicamente compatibles. Las formas de pastilla pueden contener el ingrediente activo en un sabor, generalmente sacarosa y acacia o tragacanto, así como pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte, como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia, emulsiones, geles y similares que contienen, además del ingrediente activo, los portadores que son conocidos en la técnica.

[0027] Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles isotónicas acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, soluciones amortiguadoras, bacteriostatos y solutos que formulan la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizadores y preservantes. El Compuesto 1 se puede administrar en un diluyente fisiológicamente aceptable

en un portador farmacéutico, como un líquido estéril o una mezcla de líquidos, que incluyen agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones de azúcar relacionadas, un alcohol, (por ejemplo, etanol, isopropanol o alcohol hexadecílico), glicoles (por ejemplo, propilenglicol o polietilenglicol), cetales de glicerol (por ejemplo, 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol), éteres (por ejemplo, poli(etilenglicol) 400), un aceite, un ácido graso, un éster o glicérido de ácido graso, o un glicérido de ácido graso acetilado, con o sin la adición de un surfactante farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, un jabón o un detergente), agente de suspensión (por ejemplo, pectina, carbómeros, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa), o agentes emulsionantes y otros adyuvantes farmacéuticos.

[0028] Los aceites que se pueden usar en formulaciones parenterales incluyen aceites de petróleo, animales, vegetales o sintéticos. Ejemplos específicos de aceites incluyen maní, soya, sésamo, semilla de algodón, maíz, oliva, petrolato y minerales. Los ácidos grasos adecuados para usarse en formulaciones parenterales incluyen ácido oleico, ácido esteárico y ácido isoesteárico. El oleato de etilo y el miristato de isopropilo son ejemplos de ésteres de ácidos grasos adecuados. Los jabones adecuados para usarse en formulaciones parenterales incluyen sales de metales alcalinos grasos, amonio y trietanolamina, y los detergentes adecuados incluyen (a) detergentes catiónicos tales como, por ejemplo, haluros de dimetil dialquilamonio y haluros de alquil piridinio, (b) detergentes aniónicos tales como, por ejemplo, sulfonatos de alquilo, arilo y olefina, alquilo, olefina, éter y sulfatos de monoglicéridos y sulfosuccinatos, (c) detergentes no iónicos como, por ejemplo, óxidos de aminas grasas, alcanolamidas de ácidos grasos y copolímeros de polioxietileno-polipropileno, (d) detergentes anfóteros tales como, por ejemplo, alquil-beta-aminopropionatos y sales de amonio cuaternario de 2-alquilimidazolina, y (3) mezclas de los mismos.

[0029] Las formulaciones parenterales típicamente contendrán de alrededor de 0.5 a alrededor de 25% por peso del Compuesto 1 en solución. Se pueden usar preservantes y soluciones amortiguadoras adecuadas en dichas formulaciones. Para minimizar o eliminar la irritación en el sitio de inyección, tales composiciones pueden contener uno o más surfactantes no iónicos que tienen un equilibrio hidrofílico-lipofílico (HLB) de alrededor de 12 a alrededor de 17. La cantidad de surfactante en dichas formulaciones varía de alrededor de 5 a alrededor de 15% por peso. Los surfactantes adecuados incluyen ésteres de ácido graso de polietileno sorbitán, tales como monooleato de sorbitán y los aductos de alto peso molecular de óxido de

etileno con una base hidrófoba, formados por la condensación de óxido de propileno con propilenglicol. Las formulaciones parenterales se pueden presentar en envases sellados de dosis unitarias o multidosis, como ampollas y viales, y se pueden almacenar en una condición de secado por congelamiento (liofilizada) solo con la adición del portador líquido estéril (por ejemplo, agua) para inyecciones, inmediatamente antes de usar. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles del tipo descrito líneas arriba.

[0030] Los requisitos para portadores farmacéuticos eficaces para las composiciones inyectables son bien conocidos por los expertos en la técnica. Ver *Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J. B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa., Banker y Chalmers, eds., páginas 238-250 (1982), y *ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 4° ed., páginas 622-630 (1986).

[0031] Las composiciones de aplicación tópica generalmente son en forma de líquidos (por ejemplo, enjuagues bucales), cremas, pastas, lociones y geles. La administración tópica incluye la aplicación a la mucosa oral, que incluye la cavidad oral, el epitelio oral, el paladar, la encía y la mucosa nasal. El portador puede ser líquido, sólido o semisólido. En las materializaciones físicas, la composición es una solución acuosa, como un enjuague bucal. Alternativamente, la composición puede ser un vehículo de dispersión, emulsión, gel, loción o crema para los diversos componentes. En una materialización física, el vehículo primario es agua o un solvente biocompatible que es sustancialmente neutro o que se ha vuelto sustancialmente neutro. El vehículo líquido puede incluir otros materiales, tales como anti-irritantes, soluciones amortiguadoras, alcoholes, glicerina y aceites minerales con diversos emulsionantes o agentes dispersantes conocidos en la técnica para obtener el pH, la consistencia y la viscosidad deseados. Es posible que la composición se pueda producir como un sólido, como un polvo o gránulos. Los sólidos se pueden aplicar directamente o se disuelven en agua o un solvente biocompatible antes de su uso para formar una solución que es sustancialmente neutra (por ejemplo, pH alrededor de 7) o que se ha vuelto sustancialmente neutra y que luego se puede aplicar al sitio objetivo. En las materializaciones físicas de la invención, el vehículo para la aplicación tópica en la piel puede incluir agua, soluciones amortiguadoras, diversos

alcoholes, glicoles tales como glicerina, materiales lipídicos tales como ácidos grasos, aceites minerales, fosfoglicéridos, colágeno, gelatina y materiales basados en silicona.

[0032] En una materialización física, la solubilidad del Compuesto 1 en la composición farmacéutica (por ejemplo, solución acuosa), incluyendo el portador y cualquier otro excipiente presente, es al menos 5 mg/mL, al menos 10 mg/mL, al menos 20 mg/mL, al menos 30 mg/mL, al menos 40 mg/mL, o al menos 50 mg/mL. En particular, la solubilidad será de alrededor de 40 mg/mL, alrededor de 45 mg/mL, alrededor de 50 mg/mL, alrededor de 55 mg/mL, alrededor de 60 mg/mL, o alrededor de 65 mg/mL.

[0033] Una composición farmacéutica que comprende el Compuesto 1, tal como una solución acuosa que comprende el Compuesto 1, típicamente es estable (por ejemplo, a temperatura ambiente y/o a una temperatura menor a la temperatura ambiente) por al menos 1 hora (por ejemplo, al menos 2 horas, al menos 3 horas, al menos 4 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 12 horas, al menos 18 horas, al menos 24 horas, al menos 36 horas, al menos 2 días, al menos 2.5 días, al menos 3 días, al menos 3.5 días, al menos 4 días, al menos 4.5 días, al menos 5 días, al menos 5.5 días, al menos 6 días, al menos 6.5 días, o al menos 7 días (1 semana)).

[0034] Para ayudar a aumentar la estabilidad a largo plazo, la composición farmacéutica puede, si se desea, almacenarse a una temperatura menor a la temperatura ambiente, incluyendo el almacenamiento de la composición a 20 °C o menos, 15 °C o menos, 12 °C o menos, 10 °C o menos, 8 °C o menos, 5 °C o menos, 2 °C o menos, o 0 °C o menos. El límite inferior de la temperatura puede ser, por ejemplo, -40 °C o más, -30 °C o más, -20 °C o más, -10 °C o más, o 0 °C o más. Cualquiera de los dos puntos finales anteriores se puede usar para definir un rango cerrado, o se puede usar individualmente para definir un rango abierto. En ciertos aspectos de la invención, la composición farmacéutica es una solución transparente que comprende agua como portador. Preferiblemente, dicha composición se almacena a una temperatura menor a la temperatura ambiente (por ejemplo, -30 °C a 0 °C, alrededor de 0 °C o alrededor de -20 °C).

[0035] La composición farmacéutica puede tener cualquier pH adecuado para una formulación y/o tratamiento deseado. Típicamente, la composición farmacéutica tiene un pH de alrededor de 7, tal como un pH de alrededor de 6-8 (por ejemplo, entre 6.0 a 8.0, entre 6.5 a 7.5, entre 6.6 a 7.4, y entre 6.7 a 7.3).

[0036] La dosis administrada al individuo (por ejemplo, un mamífero, tal como un humano) de acuerdo con la presente invención debería ser suficiente para afectar la respuesta deseada. Una persona experta en la técnica reconocerá que la dosificación dependerá de una variedad de factores, que incluyen la edad, la condición o el estado de la enfermedad, la predisposición a la enfermedad, defecto o defectos genéticos y el peso corporal del individuo. El tamaño de la dosis también estará determinado por la vía de administración, el tiempo y la frecuencia de la administración, así como por la existencia, la naturaleza y el alcance de cualquier efecto secundario adverso que pueda acompañar a la administración del Compuesto 1 y el efecto deseado. Un experto en la técnica apreciará que diversas condiciones o estados de la enfermedad pueden requerir un tratamiento prolongado que implica múltiples administraciones.

[0037] Los métodos de la invención comprenden administrar una cantidad efectiva del Compuesto 1. Una "cantidad efectiva" significa una cantidad suficiente para mostrar un beneficio significativo en un individuo, por ejemplo, promoviendo al menos un aspecto de la citotoxicidad de las células tumorales (por ejemplo, inhibición del crecimiento, disminución de la proliferación celular, inhibición de la supervivencia de una célula cancerosa, inducción de apoptosis, reducción de la proliferación, reducción del tamaño y/o la masa de un tumor (por ejemplo, tumor sólido)), o tratamiento, curación, prevención, retraso del inicio, reducción del riesgo, detención o mejora de otras condiciones médicas relevantes asociadas con un cáncer particular. El beneficio significativo observado en el individuo puede ser de cualquier grado adecuado (10% o más, 20% o más, 30% o más, 40% o más, 50% o más, 60% o más, 70% o más, 80 % o más, 90% o más, o 95% o más). En algunos aspectos, uno o más síntomas del cáncer se previenen, reducen, retrasan, detienen y/o eliminan después de la administración del Compuesto 1, lo que previene y/o trata eficazmente el cáncer hasta cierto punto. En una materialización física particular, se previene el crecimiento de células cancerosas, se retrasa la aparición de células cancerosas, se reduce el número de células cancerosas, y/o las células cancerosas se encogen y/o destruyen tras la administración del Compuesto 1 a un individuo.

[0038] Las cantidades efectivas pueden variar dependiendo del efecto biológico deseado en el individuo y la condición que se trata. En este aspecto, cualquier dosis adecuada del Compuesto 1 se puede administrar al individuo (por ejemplo, humano), de acuerdo con el tipo de cáncer que se trata. Los expertos en la técnica conocen varias consideraciones generales

tomadas en cuenta para determinar la "cantidad efectiva" y se describen, por ejemplo, en Gilman y otros., eds., Goodman and Gilman's: *The Pharmacological Bases of Therapeutics*, 8° ed., Pergamon Press, 1990; y Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 17° Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990, cada uno de los mismos se incorporan al presente por referencia. La dosis del Compuesto 1 en forma deseable varía de alrededor de 0.1 mg por kilogramo (kg) de peso corporal del mamífero (mg/kg) (por ejemplo, de alrededor de 0.5 mg/kg, de alrededor de 0.75 mg/kg, de alrededor de, de alrededor de 1 mg/kg, de alrededor de 2 mg/kg, de alrededor de 3 mg/kg, de alrededor de 5 mg/kg, de alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 20 mg/kg, de alrededor de 30 mg/kg, de alrededor de 40 mg/kg, de alrededor de 50 mg/kg, de alrededor de 60 mg/kg, de alrededor de 75 mg/kg, de alrededor de 90 mg/kg, de alrededor de 100 mg/kg, de alrededor de 125 mg/kg, de alrededor de 150 mg/kg, de alrededor de 175 mg/kg, de alrededor de 200 mg/kg, de alrededor de 225 mg/kg, de alrededor de 250 mg/kg, de alrededor de 275 mg/kg, de alrededor de 300 mg/kg, de alrededor de 325 mg/kg, de alrededor de 350 mg/kg, de alrededor de 375 mg/kg, de alrededor de 400 mg/kg) a alrededor de 800 mg/kg (por ejemplo, a alrededor de 425 mg/kg, a alrededor de 450 mg/kg, a alrededor de 475 mg/kg, a alrededor de 500 mg/kg, a alrededor de 525 mg/kg, a alrededor de 550 mg/kg, a alrededor de 575 mg/kg, a alrededor de 600 mg/kg, a alrededor de 625 mg/kg, a alrededor de 650 mg/kg, a alrededor de 675 mg/kg, a alrededor de 700 mg/kg, a alrededor de 725 mg/kg, a alrededor de 750 mg/kg, o a alrededor de 775 mg/kg). Cualquiera de los dos puntos finales anteriores puede usarse para definir un rango cerrado o puede usarse individualmente para definir un rango abierto. Por ejemplo, la dosis del Compuesto 1 en forma deseable varía de alrededor de 100 mg/kg/día a alrededor de 600 mg/kg/día, de alrededor de 125 mg/kg/día a alrededor de 500 mg/kg/día, de alrededor de 200 mg/kg/día a alrededor de 550 mg/kg/día, de alrededor de 250 mg/kg/día a alrededor de 500 mg/kg/día, alrededor de 250 mg/kg/día, o alrededor de 500 mg/kg/día.

[0039] La actividad constitutiva de STAT3 es un marcador para muchos tipos de cánceres y otras enfermedades, tales como nefropatía diabética, resistencia a la insulina del músculo esquelético en diabetes tipo 2, endometriosis, depresión, asma, colitis, fibrosis renal, enfermedad inflamatoria intestinal, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington y autismo. Ver, por ejemplo, Gkouveris y otros, *Journal of Cancer Therapy*, 2015; 6: 709-726, WO 2012/159107, y WO 2010/062681. Con

respecto a las células cancerosas, se cree que STAT3 aberrante promueve la invasión y metástasis de células tumorales. Ver, por ejemplo, Yue y otros, *Expert Opinion Investig Drugs*, 2009; 18 (1): 45-56. Por lo tanto, en algunos aspectos de la invención, el Compuesto 1 inhibe y/o reduce la actividad de STAT3 en una célula, tal como una célula cancerosa.

[0040] La inhibición de STAT3 se ha descrito en la técnica como un tratamiento viable del cáncer, típicamente a través de la prevención de la fosforilación/activación de STAT3, la inhibición de la unión al ADN o la inhibición de la formación del dímero STAT3. Se ha demostrado que la supresión de la actividad de STAT3 induce la apoptosis en las células cancerosas. Ver, por ejemplo, Gkouveris y otros, *Journal of Cancer Therapy*, 2015; 6: 709-726. Por lo tanto, el Compuesto 1 puede administrarse a un individuo que lo necesite como parte de un método de tratamiento para cáncer. En particular, la invención proporciona un método para prevenir el cáncer (por ejemplo, cáncer de mama) en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad efectiva del Compuesto 1. En dicho método, típicamente hay un retraso en la aparición del cáncer o en la formación de células cancerosas, particularmente en un individuo con riesgo de un cáncer en particular. Además, se proporciona un método para tratar el cáncer (por ejemplo, cáncer de mama) en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad efectiva del Compuesto 1. En dicho método, las células cancerosas se destruyen, encogen, inhiben y/o reducen en número.

[0041] El tipo de cáncer que se va a tratar o prevenir no está particularmente limitado, pero en ciertos aspectos, el cáncer se caracteriza por tener una mayor actividad de STAT3 y/o una menor expresión de Ki67 en relación con el tejido normal del mismo tipo. Ver, por ejemplo, Garcia y otros, *Cell Growth Differ*, 1997; 8(12): 1267-1276; Watson y otros, *Br J Cancer*, 1995; 71(4): 840-844; Huang y otros, *Gynecol Oncol*, 2000; 79(1): 67-73; Dhir y otros, *Prostate*, 2002; 51(4): 241-246; Mora y otros, *Cancer Res*, 2002; 62(22): 6659-6666; Corvinus y otros, *Neoplasia*, 2005; 7(6): 545-555; Guo y otros, *Am J Transl Res*, 2009; 1(3): 283-290; Schaefer y otros, *Oncogene*, 2002; 21(13): 2058-2065; y Wei y otros, *Oncogene*, 2003; 22(3): 319-329. Por ejemplo, STAT3 es constitutivamente activo en más del 40% de todos los cánceres de mama, particularmente en los cánceres de mama triple negativo, que carecen de la expresión del receptor de estrógeno (ER), receptor de progesterona (PR) y receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2/Neu) (Banerjee y otros, *Int J Cancer*, 2016; 138 (11): 2570-2578). También se ha demostrado que STAT3 activado induce la biosíntesis de

estrógenos y la posterior proliferación de células epiteliales de mama positivas para ER (Ishii y otros., *Cancer Res*, 2008; 68 (3): 852-860), y se cree que desempeña un papel en el mantenimiento de células de cáncer de mama similares a las células madre que promueven la recurrencia tumoral y en la conversión de una población de células madre no cancerosas a células similares a las células madre de cáncer de mama (Marotta y otros, *J Clin Invest*, 2011; 121 (7) : 2723-2735). Por lo tanto, el presente inhibidor de STAT3 ofrece una única ventaja sobre los agentes preventivos contra el cáncer de mama aprobados por la FDA, tamoxifeno y raloxifeno, en el sentido de que el inhibidor de STAT3 podría prevenir potencialmente múltiples subtipos de cáncer de mama. Además, debido a que el Compuesto 1 como inhibidor de STAT3 tiene un mecanismo de acción distinto al del tamoxifeno y raloxifeno de los moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERM), dichos inhibidores también pueden ser particularmente útiles contra los cánceres de mama ER-positivos que han desarrollado resistencia a estos medicamentos.

[0042] Los ejemplos de cánceres tratables con los métodos de la invención incluyen cánceres de cabeza y cuello, ojos, piel, boca, garganta, esófago, pecho, hueso, pulmón, colon, sigmoide, recto, estómago, próstata, mama, ovarios, riñón, hígado, páncreas, cerebro, intestino, corazón o glándulas suprarrenales. Más particularmente, los cánceres incluyen tumores sólidos, sarcomas, carcinomas, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendotelio sarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiosarcoma, rabdomiosarcoma, carcinoma de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinomas papilares, 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 cervical, tumor testicular, carcinoma pulmonar, carcinoma pulmonar de células pequeñas, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, sarcoma de Kaposi, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, menangioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, un tumor de transmisión sanguínea, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda de células

B, leucemia linfoblástica aguda de leucemia de células T, leucemia mieloblástica aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia monoblástica aguda, leucemia eritroleucémica aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia indiferenciada aguda, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células peludas o mieloma múltiple. Ver, por ejemplo, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Eugene Braunwald y otros, eds., pp. 491 762 (15° ed. 2001). En algunos aspectos, el cáncer es un tumor sólido.

[0043] De acuerdo con una materialización física, el cáncer que se trata y/o previene se selecciona de leucemia, mieloma múltiple, cáncer de páncreas, cáncer renal, cáncer de cerebro, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de hígado, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de ovario y cáncer de próstata. En otra materialización física, el cáncer es cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer renal, cáncer de cerebro o cáncer de páncreas. En otra materialización física, el cáncer es cáncer de páncreas, cáncer de hígado o cáncer de mama. Preferiblemente, el cáncer que se trata y/o previene es el cáncer de mama.

[0044] El individuo a tratar necesita tratamiento y tiene cáncer, está en riesgo de cáncer y/o se sospecha que tiene cáncer. Un individuo puede estar en riesgo de cáncer en función de una variedad de factores, que incluyen la edad, la predisposición genética (por ejemplo, antecedentes familiares de cáncer y/o el resultado de un ensayo de detección genética), exposición a la radiación, exposición al humo, inhalación de partículas, consumo de mutágenos y/o dieta. Un individuo con al menos un familiar de primer grado (es decir, un padre, hermano y/o hijo) diagnosticado con un cáncer en particular puede sugerir que el individuo tiene un riesgo más alto que el promedio de ese cáncer. Dos familiares de primer grado diagnosticados con un cáncer en particular aumentan aún más el riesgo. Los individuos pueden ser examinados por y/o diagnosticados con diversos tipos de cánceres, incluyendo autoexamen, examen clínico, mamografía, prueba de Papanicolaou, ultrasonido, tomosíntesis digital de mama, biopsia, resonancia magnética (MRI), rayos X, colonoscopia, prueba de sangre, prueba de orina, examen rectal y tomografía computarizada de baja dosis (LDCT). En un ejemplo particular, un individuo que tiene una mutación en el gen de cáncer de mama tipo 1 (BRCA1) y/o el gen HER2 y/o una alta expresión de uno o más biomarcadores de cáncer conocidos (por ejemplo, Ki67, receptor de estrógenos, receptor de progesterona, antígeno prostático específico (PSA),

CA-125) típicamente sería reconocido como un individuo en riesgo de cáncer (por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de ovario) o sospechoso de tener cáncer. En un ejemplo particular, se puede detectar en un individuo una tasa de crecimiento celular (por ejemplo, la proporción de células cancerosas dentro de un tumor que crecen y se dividen para formar nuevas células cancerosas). Se pueden medir los niveles de Ki67, y cuanto mayor sea el porcentaje de Ki67, más rápido crecerán las células cancerosas. Otros posibles marcadores tumorales que se pueden analizar en una muestra de sangre, tejido, orina o médula ósea de un individuo incluyen, por ejemplo, reordenamientos del gen AFP, ALK, reordenamiento del gen de inmunoglobulina de células B, B2M (beta 2-microglobulina), BCR -ABL, CA 15-3, Ca-19-9, calcitonina, CEA (antígeno carcinoembrionario), cromogranina A (CgA), DCP (des-gamma-carboxi, protrombina), mutación EGFR, fibrina, fibrinógeno, gastrina, hCG (gonadotropina coriónica humana), mutación JAK2, mutación KRAS, LD (lactato deshidrogenasa), inmunoglobulinas monoclonales, SMRP (péptidos solubles relacionados con la mesotelina), reordenamiento del gen del receptor de células T, tiroglobulina, firma de 21 genes y firma de 70 genes.

[0045] Los lineamientos de detección para evaluar el riesgo de un individuo respecto a ciertos tipos de cáncer varían según el cáncer. Por ejemplo, se recomienda la detección del cáncer de mama para (i) individuos que se consideran que tienen un riesgo promedio mayor de 45 años, y (ii) someter a prueba al menos anualmente, particularmente a individuos de 30 años que se consideran que tienen un riesgo más alto que el promedio (por ejemplo, tienen al menos un padre, hermano o hijo con cáncer de mama, con resultado positivo para la mutación del gen BRCA1, BRCA2, HER2 y/o CHEK2, y/o antecedentes de radiación torácica entre las edades de 10 y 30 años). La detección del cáncer colorrectal se recomienda para individuos con un riesgo promedio mayores de 50 años, pero se pueden realizar pruebas previas para individuos evaluados con mayor riesgo si un familiar de primer grado ha tenido pólipos colorrectales o cáncer colorrectales, un individuo que tiene una enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa), y/o un individuo que tiene un síndrome genético, como poliposis adenomatosa familiar (PAF) o cáncer colorrectal hereditario sin poliposis (síndrome de Lynch). Los individuos pueden estar en riesgo de padecer cáncer de pulmón si el individuo tiene antecedentes de tabaquismo, actualmente fuma o ha dejado de fumar en los últimos 15 años y tiene entre 55 y 80 años. Los hombres pueden estar en riesgo

de cáncer de próstata si el individuo es afroamericano, tiene un pariente de primer grado que fue diagnosticado con cáncer de próstata antes de los 60 años de edad y/o tenía un pariente de primer grado que murió de cáncer de próstata antes de los 75 años.

[0046] En ciertas materializaciones físicas de los métodos que se describen en el presente, el Compuesto 1 se puede co-administrar con uno o más (por ejemplo, 2, 3 o más) agentes anticancerígenos adicionales (por ejemplo, un agente quimioterapéutico) y/o radioterapia. Los términos "co-administrado" o "co-administración" se refieren a la administración simultánea o secuencial. Un compuesto se puede administrar antes, simultáneamente o después de la administración de otro compuesto.

[0047] Ejemplos de agentes anticancerígenos incluyen compuestos de platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino), agentes alquilantes (por ejemplo, ciclofosfamida, ifosfamida, clorambucilo, mostaza nitrogenada, tiotepa, melfalano, busulfano, procarbazona, estreptozocina, temozolomida, dacarbazina, bendamustina), antibióticos antitumorales (por ejemplo, daunorrubicina, doxorubicina, idarrubicina, epirubicina, mitoxantrona, bleomicina, micomicina C, plicamicina, dactinomicina), taxanos (por ejemplo, paclitaxel y docetaxel), antimetabolitos (por ejemplo, 5-fluorouracilo, citarabina, premetrexed, tioguanina, floxuridina, capecitabina y metotrexato), análogos de nucleósidos (por ejemplo, fludarabina, clofarabina, clabridina, pentostatina, nelarabina), inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo, topotecan e irinotecan), agentes hipometilantes (por ejemplo, azacitidina y decitabina), inhibidores de proteosomas (por ejemplo, bortezomib), epipodofilotoxinas (por ejemplo, etopósido y tenipósido), inhibidores de la síntesis de ADN (por ejemplo, hidroxiurea), alcaloides de la vinca (por ejemplo, vincristina, vindesina, vinorelbina y vinblastina), inhibidores de tirosina quinasa (por ejemplo, imatinib, dasatinib, nilotinib, sorafenib, sunitinib), anticuerpos monoclonales (por ejemplo, rituximab, cetuximab, panetumumab, tositumomab, trastuzumab, alemtuzumab, gemtuzumab, ozogamicina, bevacizumab), nitrosoureas (por ejemplo, carmustina, fotemustina y lomustina), enzimas (por ejemplo, L-Asparaginasa), agentes biológicos (por ejemplo, interferones e interleucinas), hexametilmelamina, mitotano, inhibidores de la angiogénesis (por ejemplo, talidomida, lenalidomida), esteroides (por ejemplo, prednisona, dexametasona y prednisolona), agentes hormonales (por ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno, leuprolida, bicalutamida, goserrelina, flutamida), inhibidores de la aromatasa (por ejemplo, letrozol y anastrozol), trióxido de arsénico, tretinoína, inhibidores no

selectivos de la ciclooxigenasa (por ejemplo, agentes antiinflamatorios no esteroideos, salicilatos, aspirina, piroxicam, ibuprofeno, indometacina, naprosina, diclofenaco, tolmetina, ketoprofeno, nabumetona, oxaprozina), inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), o cualquier combinación de los mismos. En algunas materializaciones físicas recomendadas, una composición farmacéutica comprende un portador farmacéuticamente aceptable, el Compuesto 1, y ya sea tamoxifeno, raloxifeno o tamoxifeno y raloxifeno.

[0048] Para los fines de la presente invención, el término "individuo" típicamente se refiere a un mamífero. Los mamíferos incluyen, a título enunciativo y no limitativo, el orden Rodentia, como los ratones, y el orden Lagomorpha, como los conejos. En algunos aspectos, los mamíferos son del orden Carnivora, incluidos felinos (gatos) y caninos (perros), Artiodactyla, incluidos bovinos (vacas) y cerdos (cerdos) o del orden Perissodactyla, incluidos equinos (caballos). En algunos aspectos, los mamíferos son del orden Primates, Ceboidea o Simioides (monos) o del orden Antropoides (humanos y simios). En materializaciones físicas de la invención, el individuo a tratar es un humano. El individuo puede ser masculino o femenino, y en algunos aspectos de la invención, el individuo es femenino.

[0049] Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención pero, por supuesto, no se deben interpretar como limitantes de su alcance.

EJEMPLO 1

[0050] Este ejemplo demuestra la estabilidad de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[(4-metilfenil)sulfonyl]oxy]acetyl]amino] en presencia de diversas bases.

[0051] Se realizaron estudios de cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS), en los que 1,1 equivalentes molares de una variedad de bases, que incluyen LiOH, NaOH, K₂CO₃, NaHCO₃, y 2-amino-2- (hidroximetil)-1,3-propanodiol (TRIZMA™, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) se pesaron, se disolvieron en agua y se añadieron a ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[(4-metilfenil)sulfonyl]oxy]acetyl]amino]]. Las mezclas resultantes se examinaron para determinar su solubilidad y estabilidad con los resultados que se analizaron por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) con detección por UV y espectroscopía de masas.

[0052] Respecto a todas las bases examinadas, ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[(4-metilfenil)sulfonyl]oxy]acetyl]amino] presentó buena solubilidad acuosa, sin embargo, no toda la sal fue estable (FIGS. 1A-1D). Como se observa en los datos de espectros de masas, el

degradante primario fue la pérdida del grupo tosilato (Figura 2). La degradación fue mucho más pronunciada en bases más fuertes, como el hidróxido de sodio. Se determinó que TRIZMA™, una base más débil y más impedida, proporcionó una excelente solubilidad (alrededor de 60 mg/ml de solubilidad en agua con pH 7), y el producto permaneció estable durante el análisis inicial (hasta ~ 8 horas en agua a temperatura ambiente).

EJEMPLO 2

[0053] Este ejemplo demuestra una síntesis del Compuesto 1 en una materialización física de la invención.

[0054] El ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] (1.52 g, GLG-Pharma, Jupiter, FL, lote AL650-78-4) se disolvió en 11 ml de isopropanol y 18 mL tetrahidrofurano (THF). En un recipiente separado, se disolvió 506 mg de 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol (TRIZMA™, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, lote SLBK9274V) en 1,0 ml de agua destilada. Las dos mezclas se combinaron, se mezclaron por 30 minutos, se filtraron a través de un filtro de membrana de nylon de 0,2 µm y luego se destilaron al vacío bajo calor. La destilación continuó hasta que aproximadamente la mitad del volumen permaneció, por ejemplo, alrededor de 15 ml. Se añadió isopropanol (15 ml) y la destilación continuó hasta que quedó la mitad del volumen, después de lo cual se añadió 15 ml de acetato de etilo, y continuó la destilación de la mezcla ternaria. Tras la eliminación de la mitad del destilado, la adición de acetato de etilo se repitió dos veces más, y la destilación final redujo el volumen a ~ 5 ml para proporcionar un aceite transparente. A continuación, se añadió 5 ml de isopropanol para proporcionar una solución transparente; luego se añadió 25 ml de acetato de etilo mediante adición gota a gota, dando como resultado la precipitación de un sólido blanco. El producto sólido se recogió por filtración y la torta del filtro se lavó con 10 ml de acetato de etilo. El producto aislado se secó al vacío para proporcionar 1.4 g (69% de rendimiento) de un material higroscópico.

[0055] La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se realizó usando un cromatógrafo de líquidos LC-2010CHT (Shimadzu, Columbia, MD) equipado con un detector interno de ultravioleta (UV). La detección fue a 261 nm. La espectrometría de masas se llevó a cabo con un espectrómetro de masas triple cuadrupolo API-4000™ (Sciex, Framingham, MA) acoplado al Shimadzu-LC. Los resultados fueron adquiridos y procesados con el software

ANALYST™, versión 1.5.1 del sistema de datos (Sciex, Framingham, MA). La separación por HPLC se realizó usando una columna XSELECT™ HSS T3 C18, 75 × 3.0 mm, de 3.5 µm (Waters Corporation, Milford, MA), con una temperatura de columna a 40°C. La fase móvil consistió en (A) ácido fórmico al 0.1% en agua (grado LC-MS, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) y (B) ácido fórmico al 0.1% en acetonitrilo (grado LC-MS, Sigma-Aldrich, San Luis, MO). El programa de elución de HPLC consistió en la siguiente rampa de gradiente: 30% de B por 5 min, rampa lineal a 90% de B por 20 min, mantenida al 90% de B por 5 min. Esto se realizó a 0.5 ml/min por 30 minutos en total con un período de 5 minutos de reequilibrio del 30% de B antes de la siguiente inyección. Se inyectaron muestras a una concentración de 0.5 mg/ml con un volumen de inyección de 5 µl. La linealidad se estableció a través de una curva de calibración estándar a una concentración de 0.5, 0.25, 0.1 y 0.05 mg/mL; $r^2 = 0.9997$. Los parámetros del espectrómetro de masas fueron los que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Tipo de Detección	Q1 MS
Polaridad	Positivo
Fuente de Iones	Atomizador ESI-Turbo
Iniciar/Detener (Da)	100.0/600.0, Tiempo = 0.50 seg
CUR	40.0
GS1	40.0
GS2	40.0
IS	2500.00
TEM	500.0
Ihe	ON
DP	20
EP	10

[0056] Como alternativa, la HPLC se realizó usando un cromatógrafo de líquidos Agilent 1100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) equipado con un detector interno de ultravioleta (UV). La detección fue a 261 nm. Los resultados fueron adquiridos y procesados con el sistema de datos Agilent ChemStation (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). La separación por HPLC se realizó usando una columna XBridge C18, 150 x 4.6 mm, de 3.5 µm (Waters Corporation, Milford, MA), con una temperatura de columna a temperatura ambiente. La fase móvil consistió en (A) ácido fórmico al 0.1% en agua (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) y (B) ácido fórmico al 0.1% en acetonitrilo (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). El programa de

elución de HPLC consistió en la siguiente rampa de gradiente: 20% de B por 5 min, rampa lineal al 90% de B por 20 min, mantenido al 90% de B por 5 min. Esto se realizó a 0.75 ml/min por 30 minutos en total con un período de 5 minutos de reequilibrio del 20% de B antes de la siguiente inyección. Se inyectaron muestras a una concentración de 0.5 mg/ml con un volumen de inyección de 5 µl.

EJEMPLO 3

[0057] Este ejemplo demuestra una síntesis del Compuesto 1 en una materialización física de la invención.

[0058] Una solución de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] (10 mmol) se disolvió en THF/EtOH (1:1) (250 mL), y la solución resultante se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Una vez que la solución se enfrió, se añadió 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol (TRIZMA™, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (10 mmol), y la mezcla se agitó por 90 minutos a 0° C. Una vez terminado, el disolvente se retiró con cuidado para mantener la mezcla a temperatura ambiente o a una temperatura menor. El residuo resultante se trituró con pentanos, y se colocó a alto vacío a 0°C por 2 horas y luego se volvió a llenar con argón. El sólido blanco resultante (rendimiento cuantitativo) se almacenó en el congelador (-20°C) hasta que esté listo para usar.

EJEMPLO 4

[0059] Este ejemplo demuestra un estudio farmacocinético (PK) de una formulación que comprende el Compuesto 1 en una materialización física de la invención.

[0060] El Compuesto 1 (750 mg) se disolvió en 10 ml de agua estéril (75 mg/ml). La solución resultante se filtró a través de un filtro de jeringa de 0.2 µm para proporcionar una solución transparente e incolora. Esta solución luego se analizó para determinar la concentración real mediante HPLC frente a un estándar. Una vez que se determinó la concentración, la solución se diluyó apropiadamente para obtener una solución de 50 mg/ml. La formulación era adecuada para su uso inmediato o para un uso posterior estando almacenada a -20°C.

[0061] Para efectos comparativos, una suspensión de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] en carboximetilcelulosa (CMC) se preparó de la

siguiente manera. Se preparó una solución al 0.5% de CMC usando agua filtrada. Se preparó una suspensión de 50 mg/ml tomando 500 mg de ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[(4-metilfenil)sulfonyl]oxy]acetyl]amino] en 10 ml de la solución de CMC al 0.5%. El pH se ajustó a 6.0-6.5. La solución es adecuada para su uso inmediato o para un uso posterior estando almacenada a temperatura ambiente por hasta 24 horas.

[0062] Se adquirieron setenta ratones FVB-N hembra, de 8 a 9 semanas de edad y de 20 a 30 g, de Charles River Laboratories (Wilmington, MA). Cuarenta y ocho recibieron dosis por sonda oral (PO) con uno de los tres niveles de dosis del Compuesto 1 o ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[(4-metilfenil)sulfonyl]oxy]acetyl]amino] mezclado con carboximetilcelulosa (CMC), ocho recibieron dosis por vía intravenosa (IV) con un nivel de dosis del Compuesto 1, y una recibió dosis intravenosa con placebo (ver Tabla 2). Dos ratones (uno en el grupo A y otro en el grupo D) recibieron una dosis incorrecta, por lo que se usaron dos ratones adicionales de los extras para reemplazarlos.

Tabla 2

Estudio PTKS	Grupo de Dosis	#Animales/dosis	Animales Totales
IV – 50 mg/kg	A	8	8
IV Placebo – 0 mg/kg	B	1	1
Compuesto 1			
PO 500 mg/kg	C	8	8
PO 250 mg/kg	D	8	8
PO 125 mg/kg	E	8	8
Formulación CMC			
PO 500 mg/kg	F	8	8
PO 250 mg/kg	G	8	8
PO 125 mg/kg	H	8	8
Total			57

^a Puntos de evaluación: 5, 10, 15, 30, 60, 90, 180, y 1440 min.

[0063] Se estableció un esquema de dosificación de la siguiente manera, sin embargo, la cantidad de dosificación real se basó en el peso medido del ratón antes del estudio. Las soluciones se prepararon directamente antes de la dosificación; el material no utilizado se almacenó congelado.

- Para 125 mg/kg dosis – 0.06 ml proporcionará 125 mg/kg para un ratón de 25 g
- $125 \text{ mg/kg} \times 0.025 \text{ kg ratón} = 3.125 \text{ mg}$; $3.125 \text{ mg} \div 50 \text{ mg/ml} = 0.06 \text{ ml}$

- Para 250 mg/kg dosis – 0.125 ml proporcionará 250 mg/kg para un ratón de 25 g
 - $250 \text{ mg/kg} * 0.025 \text{ kg ratón} = 6.25 \text{ mg}$; $6.25 \text{ mg} \div 50 \text{ mg/ml} = 0.125 \text{ ml}$
- Para 500 mg/kg dosis – 0.25 ml proporcionará 500 mg/kg para un ratón de 25 g
 - $500 \text{ mg/kg} * 0.025 \text{ kg ratón} = 12.5 \text{ mg}$; $12.5 \text{ mg} \div 50 \text{ mg/ml} = 0.250 \text{ ml}$

[0064] Los ratones se pesaron dentro de las 72 horas posteriores a la recepción y nuevamente en el Día de Estudio -1. Los ratones se observaron una vez al día antes del día 0, y al menos dos veces al día comenzando el día 0 por 24 horas después de la dosis respecto a la morbilidad y moribundidad. Ninguno de los ratones en los grupos A-H mostró signos de toxicidad después de la dosis; no hubo mortalidad debido a la administración oral o IV del Compuesto 1 o la formulación de CMC a los ratones en ninguna de las dosis administradas.

[0065] Se obtuvieron muestras de sangre de ratones individuales en ocho (8) puntos de evaluación después de la administración de la dosis: 5, 10, 15, 30, 60, 90, 180 y 1440 minutos después de la dosis usando un ratón/punto de evaluación/grupo de dosis que se muestra líneas arriba en la Tabla 2. Los animales se desangraron y las muestras de sangre recolectadas se enfriaron por al menos 3 minutos pero no más de 30 minutos, antes de la centrifugación para obtener plasma para el análisis. Cada animal fue anestesiado con CO₂; el desangramiento fue seguido por neumotórax para confirmar la muerte. Todas las muestras de plasma fueron analizadas mediante UHPLC-UV-MS para determinar la concentración del Compuesto 1, utilizando un método analítico de fase inversa. Se utilizó el análisis no compartimental (NCA) de los datos de PK para calcular los parámetros de PK, que incluyeron la vida media terminal, AUC, biodisponibilidad (F), C_{max} y T_{max}. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3

Vía de Administración	Parámetro ^a , unidad	Compuesto 1			Formulación CMC		
IV	Dosis, mg/kg	50					
	C _{max} , µg/ml	3.6					
	T _{max} , min	--					
	t _{1/2} , min	16					
	AUC _{0-∞} , µg/ml·min	59					
	AUC_%Extrap, %	1.4					
	CL, ml/min/kg	849					
	V _{ss} , l/kg	20					
	MRT, min	16					
PO	Dosis, mg/kg	500	250	125	500	250	125
	C _{max} , µg/ml	740	90	68	85	172	29
	T _{max} , min	15	15	5	15	10	10
	t _{1/2} , min	62	84	65	113	63	260
	AUC _{0-∞} , µg/ml·min	14	7.0	8.0	11	9.3	1.9
	AUC_%Extrap, %	11	23	14	34	16	ND
	F, %	2.4	2.4	5.4	1.9	3.1	1.3
	CL, ml/min/kg	850	848	847	850	847	ND*
	MRT, min	78	127	99	169	99	ND

^aAbreviaturas: C_{max}, concentración máxima plasmática; t_{1/2}, vida media de eliminación terminal; T_{max}, tiempo para alcanzar C_{max}; AUC_{0-∞}, área bajo la curva de tiempo-concentración plasmática desde el tiempo cero hasta el tiempo infinito; CL, depuración; V_{ss}, volumen de distribución en estado estable; F, biodisponibilidad oral; MRT, tiempo de residencia promedio; ND, no determinado.

*NCA falló para predecir AUC, CL, y MRT. Aquí se reporta AUC_{0-3h}.

[0066] Para el análisis de estabilidad del plasma, la preparación de la muestra consistió en tomar 0.1 ml de plasma, que se pipeteó volumétricamente en un tubo de microcentrífuga con tapa a presión de 1.5 ml que contenía 0.9 ml de acetonitrilo. El tubo se sometió a vórtice por ~ 1 min, luego se centrifugó a ~ 10.000 rpm por ~ 5 min. El sobrenadante se transfirió a un vial de HPLC para su análisis.

[0067] Se preparó una curva de calibración añadiendo 0.1 ml de plasma en blanco en un tubo de microcentrífuga con tapa a presión con el Compuesto 1 estándar; generando un rango de estándares de 5 ng/ml a 1,000 ng/ml. Se encontró que la respuesta del área pico es lineal en el rango con un límite de detección (LOD) de 5 ng/ml (señal a ruido de 3:1) y un límite de cuantificación (LOQ) de 20 ng/ml.

[0068] La separación cromatográfica se realizó usando una cromatografía líquida de ultra desempeño Waters ACQUITY™ (UPLC) equipada con detección UV y MS (Waters XEVO™ G2-XS Cuadrupolo Tiempo de Vuelo (Q-TOF)) (Waters Corporation, Milford, MA). Se usó una columna ACQUITY™ UPLC BEH C18 de 1.7 μm a temperatura ambiente, con el cargador de muestras automático ajustado a 10°C. La fase móvil consistió en ácido fórmico al 0.1% en agua (fase móvil A) y ácido fórmico al 0.1% en acetonitrilo (fase móvil B), que se eluyó a 0.5 ml/min por 7 minutos. Se usó un gradiente comenzando a 90% A: 10% B por 1 minuto y luego aumentando linealmente a 10% A: 90% B por 4 minutos con una retención de 1 minuto a 10:90 (A:B) por 1 minuto y finalmente un período de reequilibrio de 1 minuto a 90:10 (A:B). Los volúmenes de inyección fueron de 5 μL ; la detección UV se registró a 261 nm. Los datos espectrales de masas se recogieron en modo de ionización por electropulverización negativa en un rango de 100-800 amu, con extracción de iones del producto realizada después de la adquisición de datos a m/z 364. La fuente se ajustó a 2 kV (capilar) con una desviación de cono de muestra de 45 y una desviación de fuente de 80. La temperatura de la fuente se ajustó a 150°C y el gas de desolvatación y las temperaturas a 800 l/h y 500°C, respectivamente. El flujo de gas del núcleo se ajustó a 20 l/h. El instrumento se controló y se recopilaron los datos con el software MASSLYNX™, versión 4.1 (Waters Corporation, Milford, MA).

[0069] Para evaluar la estabilidad plasmática del Compuesto 1, el material se tomó del plasma de ratón y se analizó con el transcurso del tiempo. Inicialmente, las muestras se evaluaron diariamente, pero era evidente que la estabilidad era corta ya que no se observó ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] después de 1 día. Luego se realizó un análisis hora por hora, que mostró una marcada disminución en condiciones ambientales (ver Tabla 4). Finalmente, se realizó un estudio de estabilidad plasmática a -20°C, que mostró una mayor estabilidad a pesar de que el aumento en la estabilidad fue solo ligero (ver Tabla 5). Cabe señalar que la medición del tiempo para la condición ambiental se indica en horas (Tabla 4) en comparación con el tiempo para la condición de -20°C, que se midió en días (Tabla 5).

Tabla 4

Tiempo (horas)	% Recuperación*
0	88.6
1	61.2
2	52.6
3	28.7
5	21.3
6	15.8

* Recuperado en base a la comparación con un estándar recientemente preparado

Tabla 5

Tiempo (días)	% Recuperación*
0	94.5
1	76.6
2	65.7
3	58.0
6	46.6

* Recuperado en base a la comparación con un estándar recientemente preparado

[0070] La estabilidad en un extracto de acetonitrilo (preparación posterior a la muestra) fue buena con poca/ninguna degradación durante 6 días (ver Tabla 6). Por lo tanto, era deseable extraer las muestras en una forma más estable (acetonitrilo) lo más rápido posible para minimizar la variación de datos. En particular, una vez que se realizó la centrifugación en las muestras de sangre para proporcionar las muestras de plasma para el análisis, se realizó la extracción en acetonitrilo lo más rápido posible (por ejemplo, < 1 hora).

Tabla 6

Tiempo (Días)	% Recuperación*
0	89
2	89
3	90
6	90

* Recuperado en base a la comparación con un estándar recientemente preparado

EJEMPLO 5

[0071] Este ejemplo demuestra que el Compuesto 1 presenta la expresión de Ki67 en tejido de glándula mamaria normal.

[0072] Las células del epitelio del conducto mamario se pusieron en contacto con una dosis equivalente a 500 mg/kg, 250 mg/kg ó 125 mg/mg de peso corporal/día del Compuesto 1. Las células que no se pusieron en contacto con ningún compuesto sirvieron como control. La expresión de Ki67 se evaluó mediante el análisis inmunohistoquímico del epitelio del conducto normal. Las secciones teñidas se escanearon y cuantificaron utilizando un software automatizado de análisis por imágenes.

[0073] Los resultados se muestran en la FIG. 4. Después de dos semanas de tratamiento, se observó que una dosis de 500 mg/kg de peso corporal/día del Compuesto 1 inhibió Ki67 en un 83%, mientras que una dosis de 250 mg/kg de peso corporal/día del Compuesto 1 inhibió Ki67 en un 85%. Dado que Ki67 se considera un biomarcador para el desarrollo de cáncer de mama y otros cánceres, la capacidad de inhibir Ki67, particularmente en tejidos sanos, representa una vía viable para prevenir cánceres, como el cáncer de mama.

EJEMPLO 6

[0074] Este ejemplo demuestra que el Compuesto 1 inhibe la expresión de STAT3 en el tejido de glándula mamaria normal.

[0075] Las células del epitelio del conducto mamario se pusieron en contacto con una dosis equivalente a 500 mg/kg, 250 mg/kg o 125 mg/mg de peso corporal/día del Compuesto 1. Las células que no se pusieron en contacto con ningún compuesto sirvieron como control. La expresión de STAT3 se evaluó mediante análisis inmunohistoquímico del epitelio del conducto normal. Las secciones teñidas se escanearon y cuantificaron utilizando un software automatizado de análisis por imágenes.

[0076] Los resultados se muestran en la FIG. 5. Después de dos semanas de tratamiento, se observó que una dosis de 500 mg/kg de peso corporal/día del Compuesto 1 inhibió STAT3 en un 75%, una dosis de 250 mg/kg de peso corporal/día del Compuesto 1 inhibió STAT3 en un 44%, y una dosis de 125 mg/kg de peso corporal/día de Compuesto 1 inhibió STAT3 en 8.8%. Dado que el aumento de la actividad de STAT3 se considera un biomarcador para el

desarrollo de cáncer de mama y otros cánceres, la capacidad de inhibir STAT3, particularmente en tejidos sanos, representa una vía viable para prevenir cánceres, como el cáncer de mama.

EJEMPLO 7

[0077] Este ejemplo demuestra que el Compuesto 1 puede retrasar el inicio de cáncer de mama en un estudio *in vivo*.

[0078] A ratones hembra MMTV/Neu de cincuenta días de edad se les administró el Compuesto 1 por sonda 5 veces/semana a dosis de 500, 250 y 100 mg/kg de peso corporal/día. El grupo de control negativo recibió solo vehículo (agua purificada). Con el fin de acelerar la formación de tumores, los ratones también recibieron 7,12-dimetilbenz[a] antraceno (DMBA) mediante sonda 1 vez/semana por 4 semanas a partir de los 57 días de edad. El estudio finalizó 4 meses después de la exposición al DMBA. Durante el período de tratamiento, los pesos corporales de los ratones y la aparición de tumores mamarios palpables se controlaron semanalmente y dos veces por semana, respectivamente. No se observó pérdida de peso ni toxicidad en ninguno de los grupos durante el transcurso del experimento (Figura 6).

[0079] El tratamiento con el Compuesto 1 dio como resultado una disminución dependiente de la dosis en la incidencia, multiplicidad y pesos de los tumores mamarios en comparación con el control solo con el vehículo (Figura 7). En todas las dosis sometidas a prueba, el Compuesto 1 pudo retrasar el inicio de cáncer de mama inducido por DMBA en ratones hembra. Una dosis de 500 mg/kg de peso corporal/día mostró el mayor efecto en la prevención del cáncer de mama.

[0080] Todas las referencias, incluyendo publicaciones, solicitudes de patentes y patentes, citadas en este documento, se incorporan al presente por referencia en la misma medida que si cada referencia se indicara individual y específicamente para ser incorporada por referencia y se estableciera en su totalidad en este documento.

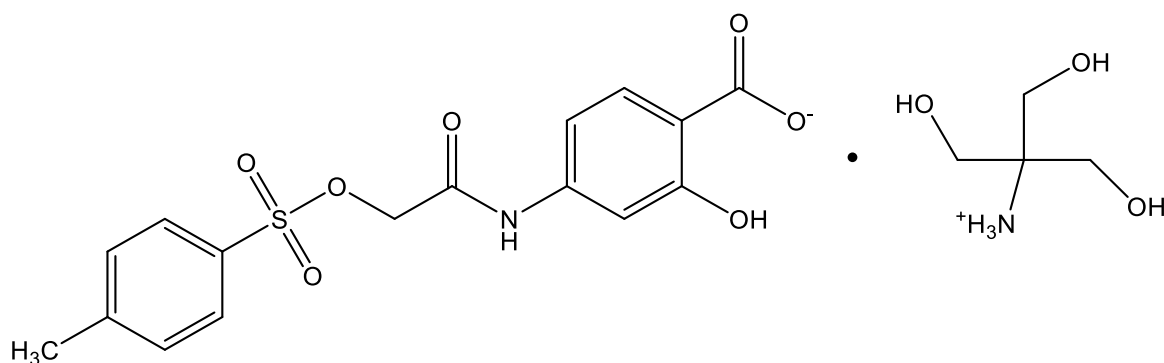
[0081] El uso de los términos "un" y "una" y "el/la" y "al menos uno" y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) debe interpretarse como que abarcan tanto el singular y el plural, a menos que se indique lo contrario en este documento o que el contexto lo contradiga claramente. El uso del término "al menos uno" seguido de una lista de uno o más elementos

(por ejemplo, "al menos uno de A y B") debe interpretarse como un elemento seleccionado de los elementos enumerados (A o B) o cualquier combinación de dos o más de los elementos enumerados (A y B), a menos que se indique lo contrario en este documento o que el contexto lo contradiga claramente. Los términos "que comprende", "que tiene", "incluyendo" y "que contiene" deben interpretarse como términos abiertos (es decir, que significa "incluyendo, pero no limitado a"), a menos que se indique lo contrario. La lectura de rangos de valores en el presente tiene el único propósito de servir como un método abreviado para hacer referencia individualmente a cada valor por separado dentro del rango, a menos que se indique lo contrario en el presente, y cada valor por separado se incorpora a la especificación como si se mencionara individualmente en el presente. Todos los métodos descritos en el presente pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en este documento o que el contexto lo contradiga claramente. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o del lenguaje usado en los ejemplos (por ejemplo, "tal como") provisto en el presente, está destinado simplemente a aclarar mejor la invención y no representa una limitación en el alcance de la invención a menos que se exprese lo contrario. Ningún lenguaje en la especificación deberá interpretarse como indicativo de ningún elemento no reivindicado esencial para la práctica de la invención.

[0082] En el presente se describen las materializaciones físicas recomendadas de esta invención, que incluyen el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Las variaciones de esas materializaciones físicas recomendadas pueden ser aparentes para los expertos en la técnica al leer la descripción que antecede. Los inventores esperan que los expertos en la técnica empleen dichas variaciones según sea apropiado, y los inventores tienen la intención de que la invención se practique de otra manera a la específicamente descrita en el presente. En consecuencia, esta invención incluye todas las modificaciones y equivalentes del tema mencionado en las reivindicaciones adjuntas al presente, según lo permitido por la ley aplicable. Además, cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las variaciones posibles de los mismos está comprendida por la invención, a menos que se indique lo contrario en el presente o que se contradiga claramente por el contexto.

REIVINDICACIONES:

1. Un compuesto de la fórmula



2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es cristalino.
3. El compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el compuesto es al menos 85% puro.
4. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y un portador farmacéuticamente aceptable.
5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, en donde el portador farmacéuticamente aceptable comprende agua.
6. La composición farmacéutica de la reivindicación 4 o reivindicación 5, en donde la composición está a una temperatura menor a 0°C.
7. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 4-6, en donde la composición tiene un pH de alrededor de 7.
8. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 4-7, que es una solución transparente.
9. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 4-8, que es una formulación oral.

10. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 4-9 que se usa para prevenir el cáncer.

11. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 4-9 que se usa para tratar el cáncer.

12. La composición farmacéutica que se usa de conformidad con la reivindicación 10 o reivindicación 11, en donde el cáncer tiene un aumento de la actividad de STAT3 y/o aumento de la expresión de Ki67 en relación con el tejido normal del mismo tipo.

13. La composición farmacéutica que se usa de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 10-12, en la que el cáncer se selecciona de leucemia, mieloma múltiple, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de hígado, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de ovario y cáncer de próstata.

14. La composición farmacéutica que se usa de conformidad con la reivindicación 13, en donde el cáncer es cáncer de páncreas, cáncer de hígado o cáncer de mama.

15. La composición farmacéutica que se usa de conformidad con la reivindicación 14, en donde el cáncer es cáncer de mama.

RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

Se divulga una sal preparada del inhibidor de STAT3 conocido como ácido benzoico 2-hidroxi-4-[[2-[[[4-metilfenil)sulfonil]oxi]acetil]amino] y 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanediol. La sal es soluble en agua y estable por periodos de tiempo prolongados. Además se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden la sal y los métodos de administración de la sal para prevenir y tratar el cáncer, como el cáncer de mama.

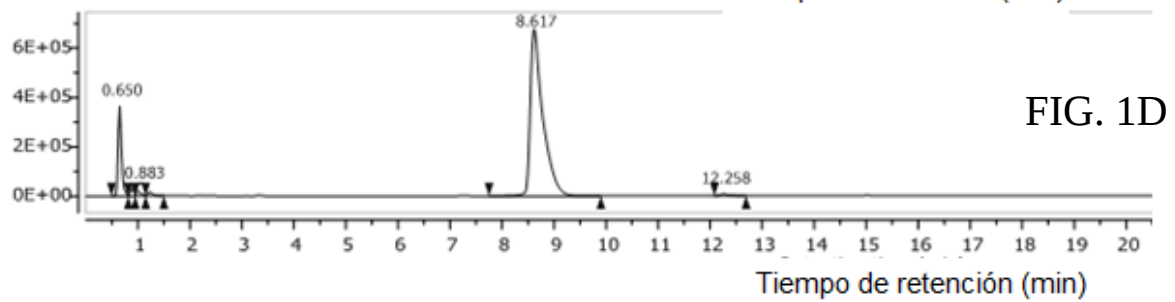
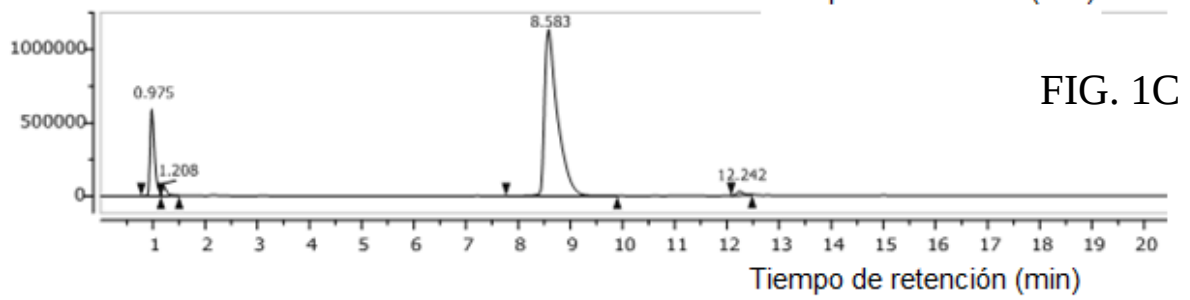
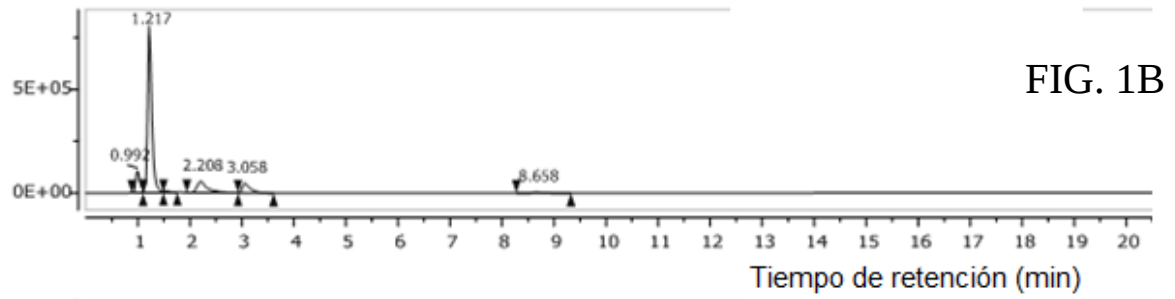
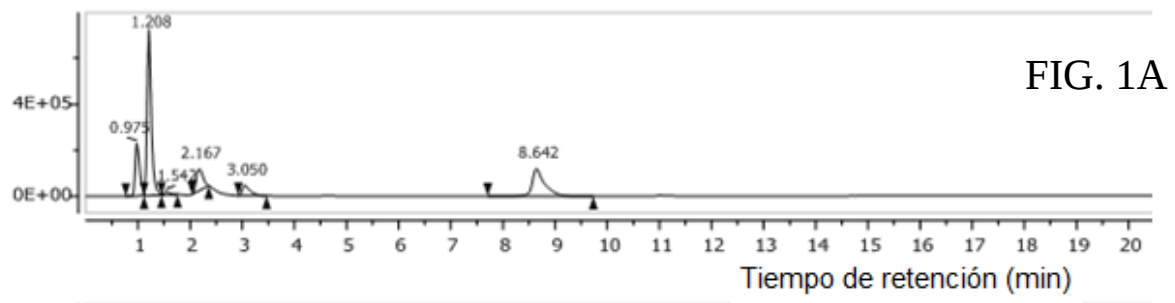


FIG. 1

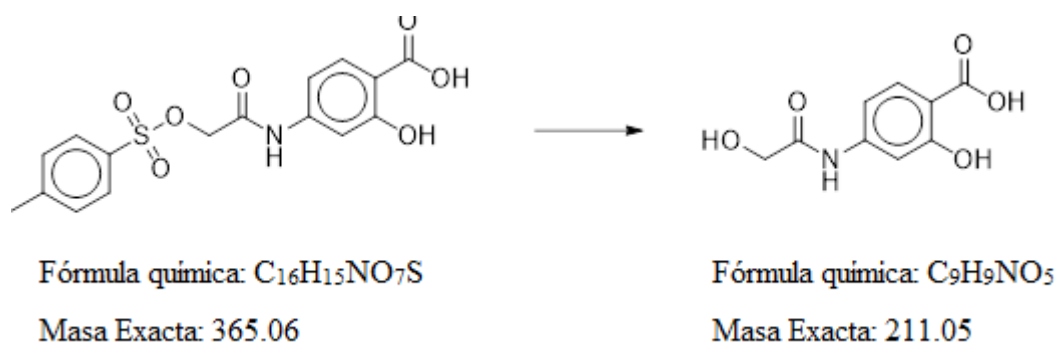


FIG. 2

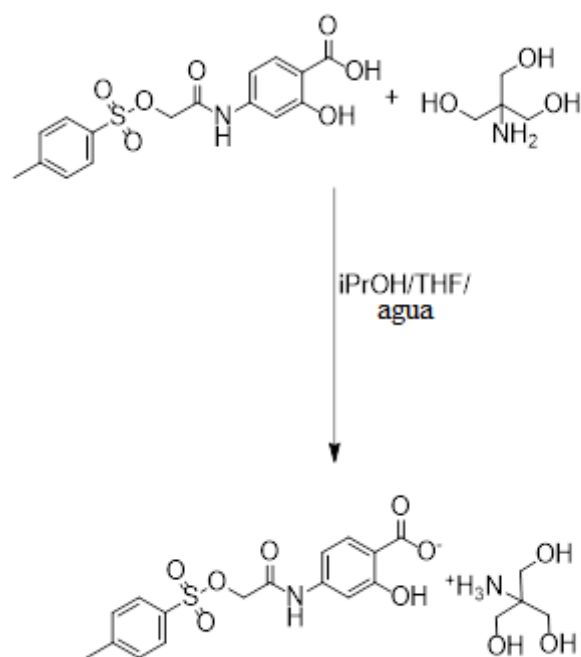


FIG. 3

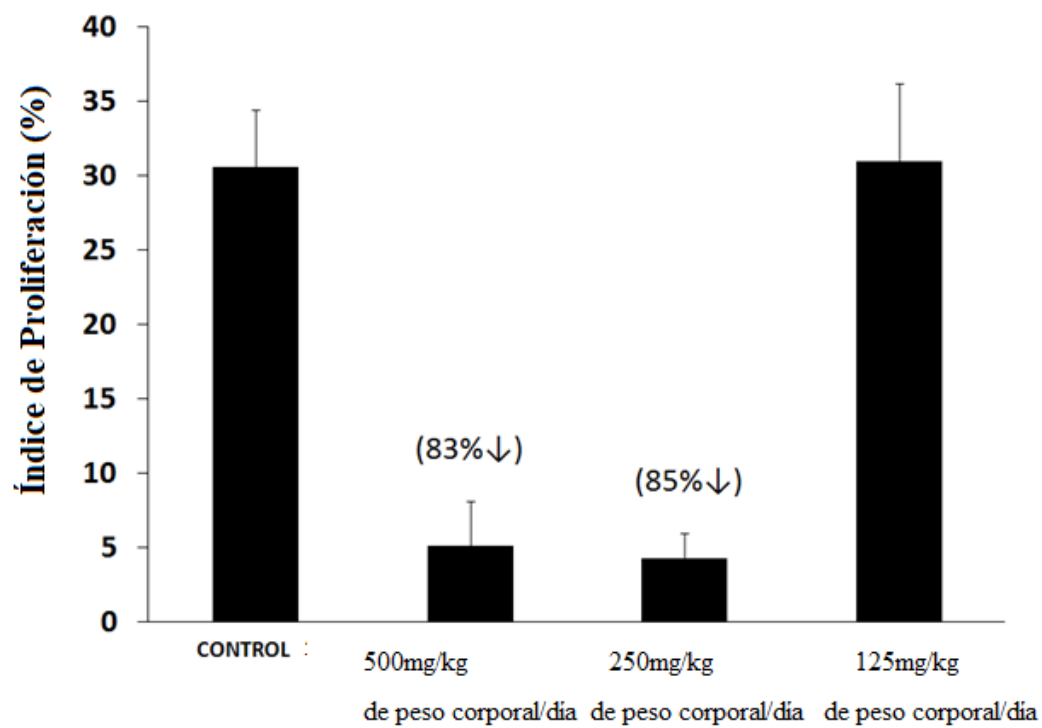


FIG. 4

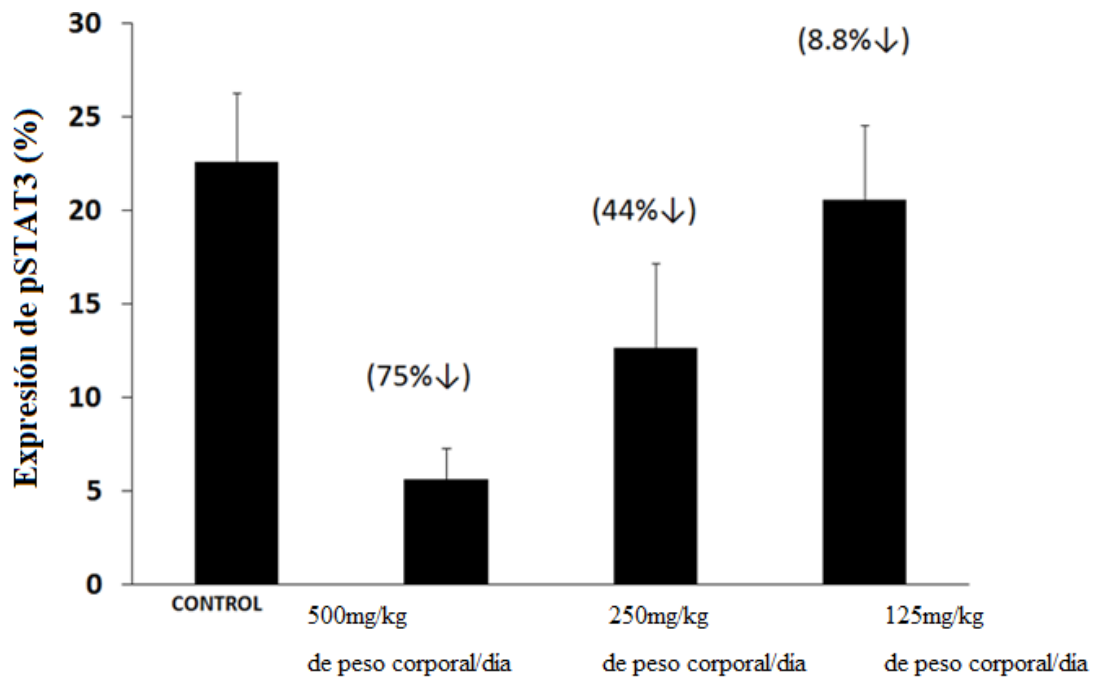


FIG. 5

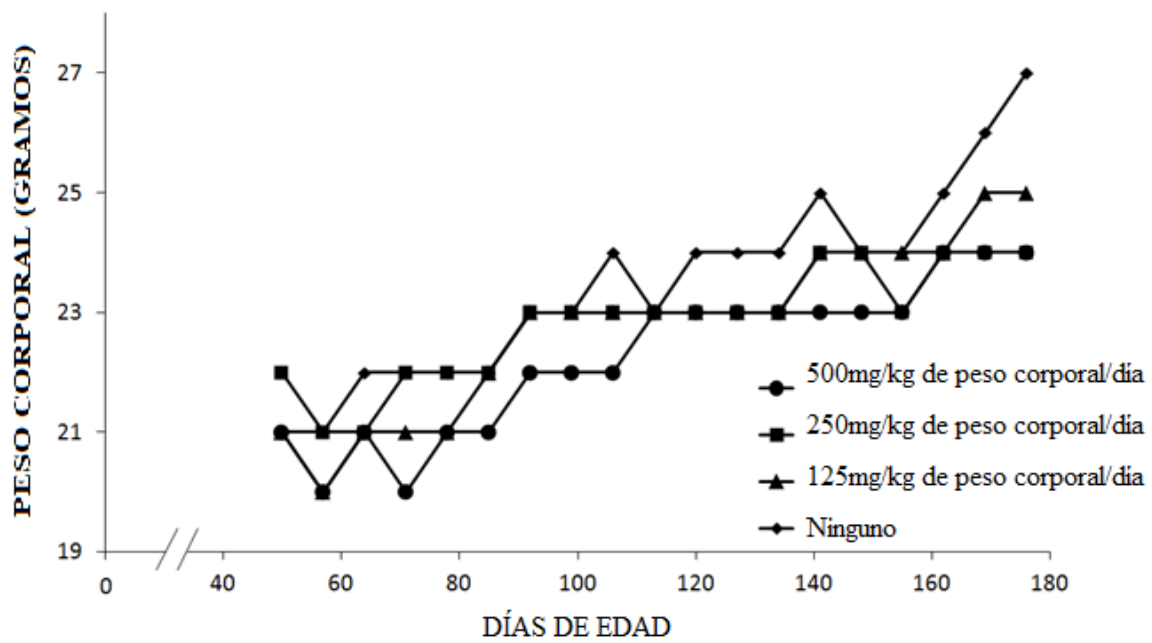


FIG. 6

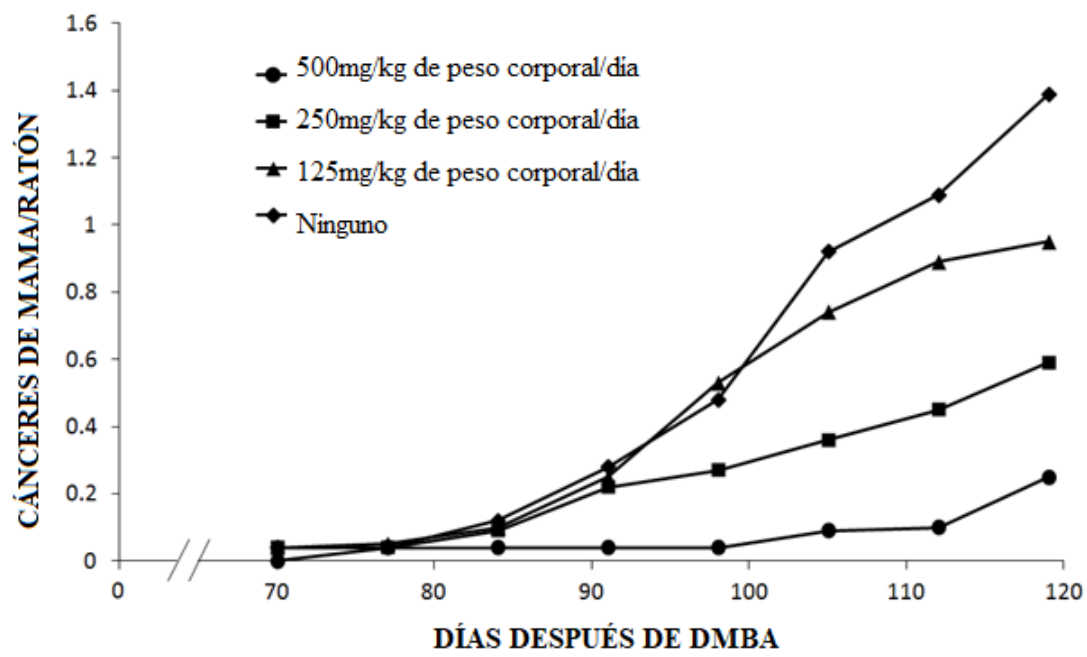


FIG. 7