

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 816 178**

51 Int. Cl.:

C07D 401/12	(2006.01) A61P 3/10	(2006.01)
C07D 213/74	(2006.01) A61P 31/18	(2006.01)
A61K 31/444	(2006.01) A61K 31/165	(2006.01)
A61K 31/4439	(2006.01) A61K 31/415	(2006.01)
A61K 31/4192	(2006.01) A61K 31/472	(2006.01)
A61P 25/00	(2006.01) C07D 213/81	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)	
A61P 17/00	(2006.01)	
A61P 9/10	(2006.01)	
A61P 7/12	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.01.2009 PCT/EP2009/050280**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.07.2009 WO09087238**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.01.2009 E 09700499 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 2235000**

54 Título: **Moléculas químicas que inhiben el mecanismo de corte para tratar enfermedades causadas por anomalías de empalme**

30 Prioridad:

10.01.2008 FR 0850144

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.03.2021

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (33.3%)
3, rue Michel-Ange
75016 Paris, FR;
INSTITUT CURIE (33.3%) y
UNIVERSITE DE MONTPELLIER (33.3%)**

72 Inventor/es:

**TAZI, JAMAL;
GRIERSON, DAVID;
MAHUTEAU-BETZER, FLORENCE y
ROUX, PIERRE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

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

ES 2 816 178 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 químicas que inhiben el mecanismo de corte para tratar enfermedades causadas por anomalías de empalme

5 La invención se refiere a nuevos compuestos derivados de indol para la preparación de composiciones útiles para el tratamiento de enfermedades causadas por cambios en procesos de empalme.

Ciertos compuestos derivados de indol tales como derivados de elipticina y derivados de aza-elipticina ya se conocen como moléculas intercalantes para la corrección de disfunciones en la expresión génica, particularmente, en la replicación del ADN. Se han descrito más específicamente para tratar enfermedades tales como cáncer, leucemia o sida (ver en particular las patentes FR 2.627.493, FR 2.645.861, FR 2.436.786).

10 Con respecto a los tratamientos actuales para el sida, las diversas estrategias orientadas a reducir la carga vírica en pacientes infectados por VIH utilizan moléculas previstas para inhibir la actividad enzimática de la transcriptasa inversa vírica o de la proteasa que participa en la maduración de la proteína del virus. En relación con los inhibidores de transcriptasa inversa, estos pueden ser de naturaleza nucleosídica (NRTI), no nucleosídica (NNRTI) o nucleotídica. El objetivo de usar estos compuestos es prevenir que se produzca una copia de ADN del genoma retroviral y, en consecuencia, que se integre en el genoma de la célula hospedante. Los inhibidores de proteasa (PI, por sus siglas en inglés) interfieren en la maduración adecuada de las proteínas víricas y causan la producción de partículas incompletas con capacidades infecciosas alteradas. Existe otro tipo de compuesto antirretroviral usado por su capacidad para prevenir que los virus ingresen a la célula. Estos inhibidores de la entrada pueden ser péptidos que interfieren en la fusión de las glicoproteínas víricas gp41 o gp120 con la membrana de células CD4 o moléculas que se dirigen a los receptores celulares del VIH CCR5 y CXCR4. La ausencia de proteínas celulares que se parecen a la VIH integrasa también se ha aprovechado para desarrollar nuevas moléculas anti-VIH que inhiben esta actividad enzimática. Aunque hay varios inhibidores de integrasa en la fase de ensayos clínicos, todavía no hay ninguna molécula disponible en el mercado.

25 Con respecto a cánceres, más del 90 % se origina a partir de la transformación maligna de células epiteliales y, en la mayoría de los casos, la mortalidad del paciente con cáncer no se debe al tumor primario, sino a la metástasis que derivan de este. Esta progresión maligna que conduce a las metástasis y su posterior invasión inicialmente implica la pérdida de adhesión celular y un aumento en la movilidad, lo que permite, por lo tanto, que las células invasoras se escapen del sitio inicial y colonicen tejidos diana. En un gran número de casos, parece ser que el mecanismo de progresión tumoral está asociado con el corte aberrante que conduce a la formación de isoformas con actividad protooncogénica. En la actualidad, no existe ninguna molécula con funcionalidad antiinvasiva. Esto señala la falta de medios verdaderamente potentes para combatir las metástasis. La actual ausencia de este tipo de molécula en el mercado les confiere un potencial económico muy alto.

30 La distrofia muscular de Duchenne (DMD) es una enfermedad grave que es causada por mutaciones en el gen distrofina. La ausencia de esta proteína conduce a la degeneración de los músculos esqueléticos y cardíacos. En la actualidad, se contemplan varias estrategias terapéuticas, incluida la denominada salto de exones, cuyo principio es cortar de la distrofina el exón interno que lleva la mutación y permitir así la producción de una distrofina más corta, pero funcional.

35 Las laminopatías son trastornos que conducen a una calidad de vida insatisfactoria, requieren un cuidado costoso y, en muchos casos, pueden conducir a la muerte prematura (es decir, las laminopatías de tejidos del músculo estriado y laminopatías caracterizadas por el envejecimiento prematuro). Las laminopatías son causadas por cambios funcionales en laminas, proteínas ubicuas ubicadas en el núcleo celular, y en sus parejas moleculares. La mayoría de los casos de progeria, o síndrome de envejecimiento precoz, son causados por una mutación puntual de novo recurrente (c.1824C>T, "G608G") que se produce en el exón 11, es decir, en la parte del gen que codifica específicamente la lamina A. Se ha demostrado que esta mutación altera los mecanismos de empalme y conduce a la producción de un precursor de lamina A truncado ("progerina", LaminΔ50, p.V607_Q656del), que ejerce un efecto negativo dominante sobre las proteínas naturales residuales.

40 En todas estas patologías, el proceso de empalme tiene un papel clave. Este de proceso de empalme intracelular consiste en eliminar intrones en preARN mensajeros para producir ARN mensajeros maduros que pueden ser usados por el mecanismo de traducción de la célula (SHARP, Cell, tomo 77, págs. 805-815, 1994). En el caso del empalme alternativo, el mismo precursor puede ser la fuente de ARN mensajeros que codifican proteínas con distintas funciones (BLACK, Annu. Rev. Biochem. tomo 72, págs. 291-336, 2003). La selección precisa de los sitios de empalme hacia 5' y 3' es, por lo tanto, un mecanismo que genera diversidad y que puede conducir a la regulación de la expresión génica según el tipo de tejido o durante el desarrollo de un organismo. Los factores que participan en esta selección incluyen una familia de proteínas denominadas SR, caracterizadas por la presencia de uno o dos motivos de reconocimiento de ARN (RRM, por sus siglas en inglés) y un dominio rico en residuos arginina y serina denominado dominio RS (MANLEY & TACKE, Genes Dev., tomo 10, págs. 1569-1579, 1996). Al unirse a secuencias exónicas o intrónicas cortas del pre-ARNm, denominadas ESE (potenciador de empalme exónico) o ISE (potenciador de empalme intrónico), las proteínas SR son capaces de activar, de manera dependiente de la dosis, sitios de empalme subóptimos y posibilitar la inclusión de exones (GRAVELEY, RNA, tomo 6, págs. 1197-1211, 2000). La actividad de una proteína

SR en el empalme alternativo es específica en la medida que la inactivación del gen correspondiente es letal (Wang, et al., *Mol. Cell*, tomo 7, págs. 331-342, 2001).

5 La secuenciación del genoma humano y el análisis de bancos de EST (identificador de secuencia expresado) han revelado que el 65 % de los genes se expresan en forma de variantes alternativamente empalmadas (EWING & GREEN, *Nat. Genet.*, tomo 25, págs. 232-234, 2000; JOHNSON et al., *Science*, tomo 302, págs. 2141-2144, 2003). Este mecanismo es, por lo tanto, una diana preferida de modificaciones que pueden afectar los factores que participan en la regulación del empalme y de mutaciones que afectan las secuencias necesarias para esta regulación. Actualmente, se estima que aproximadamente el 50 % de las mutaciones puntuales responsables de enfermedades genéticas inducen la formación aberrante de empalmes. Estas mutaciones pueden interferir en el empalme al inactivar o crear sitios de empalme, pero también al modificar o generar elementos reguladores tales como potenciadores de empalme o silenciadores de empalme en un gen particular (CARTEGNI et al., *Nat. Rev. Genet.*, tomo 3, págs. 285-298, 2002; TAZI et al., *TIBS*, tomo 40, págs. 469-478, 2005).

Las estrategias desarrolladas en la actualidad para corregir estos defectos de empalme se basan en el uso de varios tipos de moléculas (TAZI *et al.*, citado anteriormente, 2005).

15 Una estrategia orientada a desarrollar nuevas moléculas para corregir o eliminar el empalme anormal, por ejemplo, se basa en la sobreexpresión de proteínas que interfieren en este tipo de empalme (NISSIM-RAFINIA et al., *Hum. Mol. Genet.*, tomo 9, págs. 1771-1778, 2000; HOFINANN et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, tomo 97, págs. 9618-9623, 2000).

20 Otras estrategias se basan en el uso de oligonucleótidos de antisentido (SAZANI et al., *Nat. Biotechnol.*, tomo 20, págs. 1228-1233, 2002; SAZANI & KOLE, *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, tomo 31, págs. 217-239, 2003) o de PNA (CARTEGNI et al., *Nat. Struct. Biol.*, tomo 10, págs. 120-125, 2003) que posibilitan, respectivamente, la inhibición o activación de un evento de empalme.

Otra estrategia se basa en la identificación de compuestos que influyen sobre la eficacia del empalme del pre-ARNm de interés (ANDREASSI et al., *Hum. Mol. Genet.*, tomo 10, págs. 2841-2849, 2001).

25 Por último, se ha descrito una estrategia basada en el uso de transempalme para reemplazar exones mutantes (LIU et al., *Nat. Biotechnol.*, tomo 20, págs. 47-52, 2002).

Una de las desventajas de las estrategias desarrolladas para corregir o eliminar el empalme anormal mencionadas anteriormente es su costo de producción. De hecho, el costo de producir oligonucleótidos de antisentido que se deben modificar para mejorar su estabilidad y el de moléculas PNA, es alto.

30 Otra desventaja de las estrategias desarrolladas mencionadas anteriormente es que requieren el uso de vectores de expresión, tales como, por ejemplo, para la estrategia basada en el uso de transempalme.

La solicitud internacional WO05023255, bajo prioridad francesa de las solicitudes FR0310460 y FR0400973, presentadas por el solicitante, describe el uso de derivados de indol para tratar enfermedades relacionadas con el proceso de empalme de preARN mensajero en la célula.

35 Por lo tanto, recientemente se demostró que ciertos derivados de indol son particularmente eficaces para tratar el cáncer metastásico y para tratar el sida (BAKKOUR et al., *Plos Pathogens*, tomo 3, págs. 1530-1539, 2007).

Sin embargo, los compuestos descritos tienen una estructura plana con cuatro anillos que tienen la desventaja de intercalarse entre bases de ADN y pueden, por lo tanto, conducir a toxicidad celular.

40 Para minimizar el riesgo de que estos derivados de indol se intercalen entre bases de ADN, los inventos desarrollaron compuestos nuevos que son particularmente eficaces para tratar enfermedades relacionadas con el proceso de empalme, pero que, de manera sorprendente, tiene una toxicidad celular que es claramente menor que la de derivados de indol de la técnica anterior. Además, estos compuestos son capaces de inhibir selectivamente ciertos eventos de empalme.

Un primer objetivo de la invención se refiere a uno de los siguientes compuestos:

45 N-(3-Dimetilamino-propil)-3-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;

4-(4-Metoxi-fenilamino)-3-metil-N-(3-metil-butil)-benzamida;

3-Metil-N-(3-metil-butil)-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;

N-(2-Dimetilamino-etil)-2-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;

N-(2-Dietilamino-etil)-2-(4-trifluorometoxifenilamino)-benzamida;

50 N-(2-Dietilamino-propil)-2-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;

N-(3-Imidazol-1-il-propil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida;

N-(3-Imidazol-1-il-propil)-2-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;

N-(2-Dimetilamino-etil)-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;

N-(2-Dimetilamino-etil)-4-(4-metoxi-fenilamino)-3-metil-benzamida;

5 N-(3-Dietilamino-propil)-4-(4-metoxi-fenilamino)-3-metil-benzamida;

N-(3-Dietilamino-propil)-3-metil-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;

N-(2-Dimetilamino-etil)-3-metil-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;

[4-(5-Cloro-1H-imidazol-2-il)-2-metil-fenil]-(4-metoxi-fenil)-amina;

N-(2-Dimetilamino-etil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida;

10 N-(3-Imidazol-1-il-propil)-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;

N-(2-Dietilamino-etil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida;

N-(3-Dimetilamino-propil)-3-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida; y

N-(3-Dimetilamino-propil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida.

15 Un segundo objetivo de la invención consiste en una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto como se describió anteriormente y, opcionalmente, un soporte farmacéuticamente aceptable.

Como ejemplos de soportes farmacéuticamente aceptables, la composición puede incluir emulsiones, microemulsiones, emulsiones de aceite en agua, lípidos anhidros y emulsiones de agua en aceite u otros tipos de emulsiones.

20 La composición de la invención puede incluir, además, uno o más aditivos tales como diluyentes, excipientes, estabilizadores y conservantes. Dichos aditivos son conocidos para los expertos en la técnica y se describen particularmente en "Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 6th Ed." (varios editores, 1989-1998, Marcel Dekker) y en "Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems" (ANSEL et al., 1994, WILLIAMS & WILKINS).

Un tercer objetivo consiste en el uso de al menos un compuesto, como se describió anteriormente, para preparar un fármaco para tratar, en un sujeto, una enfermedad causada por al menos una anomalía de empalme.

25 Como se usa en la presente solicitud, el término "sujeto" se refiere a un mamífero, tal como un roedor, gato, perro, primate o ser humano, preferiblemente, dicho sujeto es un ser humano.

Preferiblemente, los compuestos de la invención tienen la capacidad de inhibir procesos de empalme de pre-ARN mensajero que son constitutivos o, más específicamente, dependientes de secuencias reguladoras conocidas como ESE (potenciador de empalme exónico), ISE (potenciador de empalme intrónico), ESS (silenciador de empalme exónico) e ISS (silenciador de empalme intrónico).

30 En un modo particularmente preferido, los procesos de empalme son constitutivos y/o o dependientes de secuencias reguladoras ESE.

35 Las enfermedades relacionadas con el proceso de empalme incluyen enfermedades genéticas que surgen de la alteración de procesos de empalme, más particularmente, el síndrome de Frasier, la demencia frontotemporal relacionada con el cromosoma 17 (una forma de Parkinson), el síndrome de Leigh (un tipo de encefalopatía), fibrosis quística atípica, ciertas neuropatologías que incluye, más particularmente, el Alzheimer relacionado con una mutación de la proteína Tau, amiotrofia que afecta el gen SMN (neurona motora de supervivencia), depresión relacionada con la desregulación del empalme de la serotonina y ciertos cánceres metastásicos en los que el proceso de empalme global se ve afectado (más particularmente en cáncer epitelial, incluido cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de útero y ciertos linfomas).

40 En una realización particular, el uso del al menos un compuesto de la invención es para preparar un fármaco para tratar, en un sujeto, un cáncer, lo más preferiblemente, un cáncer metastásico, dicho cáncer se selecciona en el grupo que comprende cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de útero.

45 En vista de los resultados recientes, parece ser que muchas anomalías del proceso de empalme aparecen con el envejecimiento.

Además, por lo tanto, es altamente probable que dichas anomalías tengan un papel en la aparición de patologías con el envejecimiento. Los ejemplos de enfermedades que aparecen con el envejecimiento y que probablemente están relacionadas con el proceso de empalme incluyen la aterosclerosis, la diabetes tipo II resistente a la insulina, las cataratas, la osteoporosis y el envejecimiento de la piel.

- 5 Las enfermedades relacionadas con el proceso de empalme también incluyen enfermedades de origen vírico para las cuales se han identificado secuencias de ESE para el empalme. Un ejemplo de tales enfermedades de origen vírico es el sida.

10 En otra realización particular, el uso del al menos un compuesto de la invención es para preparar un fármaco para tratar, en un sujeto, enfermedades de origen vírico para las cuales se han identificado secuencias de ESE para el empalme, preferiblemente, el sida.

Otras patologías asociadas con mutaciones génicas y que se pueden tratar con un salto de exón también se pueden tratar mediante los compuestos de la invención. Como ejemplo de dichas patologías se puede mencionar la distrofia muscular de Duchenne (DMD).

- 15 En todavía otra realización particular, el uso del al menos un compuesto de la invención es para preparar un fármaco para tratar, en un sujeto, enfermedades asociadas con mutaciones génicas que se pueden tratar mediante salto de exón, preferiblemente, la distrofia muscular de Duchenne (DMD).

Preferiblemente, la enfermedad relacionada con una anomalía de empalme se selecciona entre el grupo que comprende sida, cáncer, síndrome de Leigh caracterizado por un defecto mitocondrial, síndrome de envejecimiento precoz (progeria) y distrofia muscular de Duchenne.

- 20 Un cuarto objetivo de la invención se refiere a un método terapéutico para tratar a un sujeto por una enfermedad genética causada por anomalías de empalme que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica como se describió anteriormente.

25 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad que induce la inhibición del empalme de los pre-ARNm de interés. Los expertos en la técnica serán capaces de determinar dicha cantidad terapéuticamente eficaz en función de su conocimiento general y los métodos descritos en los ejemplos.

Los compuestos se pueden administrar mediante cualquier modo de administración tal como, por ejemplo, por vía intramuscular, intravenosa u oral, etc.

- 30 En una realización según la invención, dicha composición incluye, además, un excipiente que permite formular los compuestos de la invención de tal modo que dicha composición se proporciona en forma sólida o líquida para prepararse y administrarse por vía intravenosa.

Los compuestos de la invención, preferiblemente, se administrarán por vía intravenosa en una concentración de 80-100 mg/m². Los expertos en la técnica elegirán la concentración según el órgano o tejido que se va a tratar, el estado de avance de la enfermedad y el modo de direccionamiento usado.

- 35 Los siguientes ejemplos se proporcionan como ilustraciones y no limitan de ningún modo el alcance de la presente invención.

Ejemplo 1: Desarrollo de compuestos derivados de IDC16

Los inventores han demostrado que el compuesto IDC16 (BAKKOUR et al., mencionado anteriormente, 2007) interactúa funcionalmente con el complejo SF2/ASF y, por lo tanto, contribuye a bloquear el empalme alternativo durante la replicación del VIH, lo que conduce a la terminación de la producción de la proteína Tat.

- 40 Por consiguiente, se sabe que la familia de indoles policíclicos, a la cual pertenece el compuesto IDC16, exhibe las propiedades de agentes intercalantes de ADN. Dichos compuestos, por lo tanto, presentan un riesgo en relación con efectos secundarios indeseables.

45 Los inventores, por lo tanto, han buscado desarrollar nuevas moléculas que exhiban actividad semejante a IDC16, en relación con la actividad inhibidora del empalme de VIH, mientras no exhiban las características de agentes intercalantes de ADN.

En su hipótesis inicial, los inventores consideraron que los dos heterociclos polares en los dos extremos del compuesto IDC16 estaban asociados con su actividad y que los dos anillos medios tenían menos importancia.

En función de esta hipótesis, los inventores consideraron que:

el nitrógeno de la indolina y del anillo D de IDC16 podrían actuar como aceptores de uniones hidrógeno;

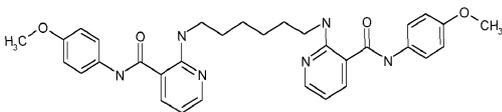
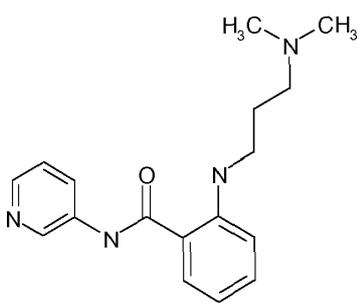
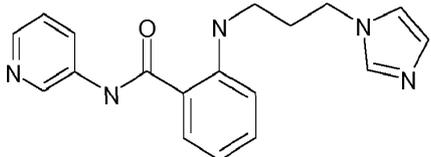
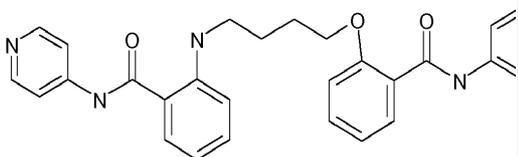
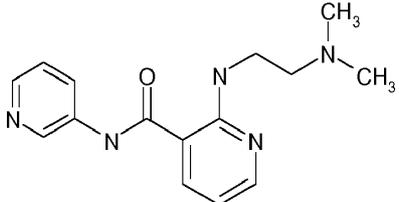
- 50 el motivo 4-piridinona N-metilado podría conversarse en los análogos;

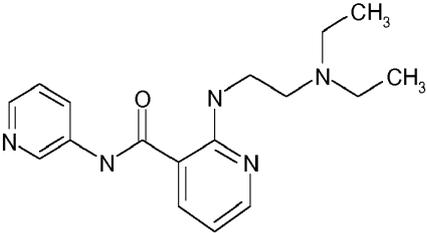
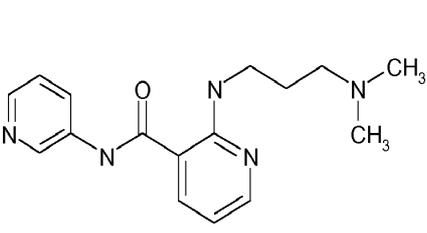
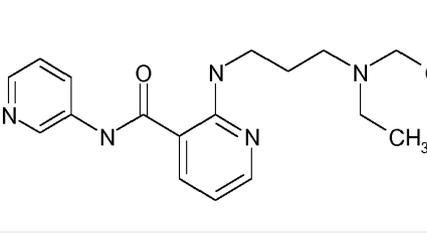
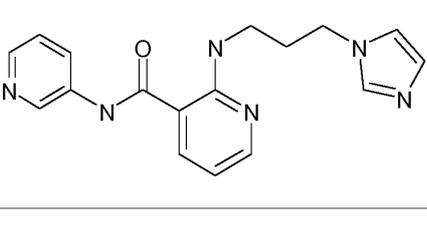
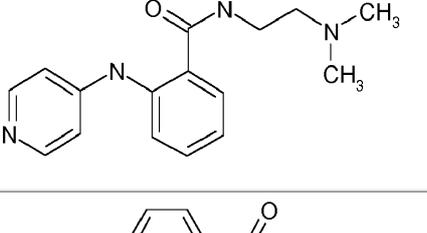
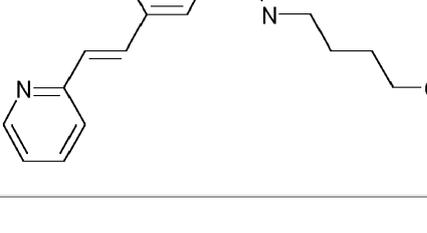
la geometría tetracíclica plana no era óptima y podría ser sensato reemplazar los anillos B y C por otros motivos para limitar las propiedades de intercalado de ADN.

Ejemplo 2: Método para sintetizar los compuestos de la presente invención

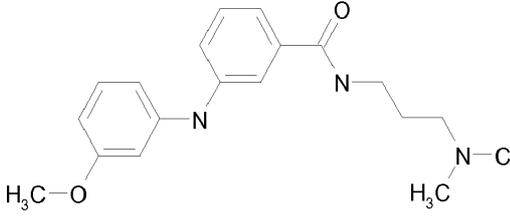
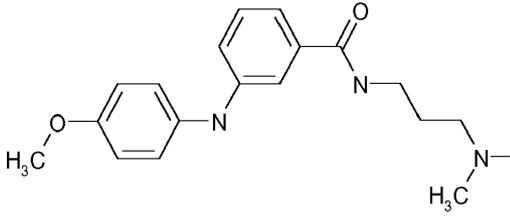
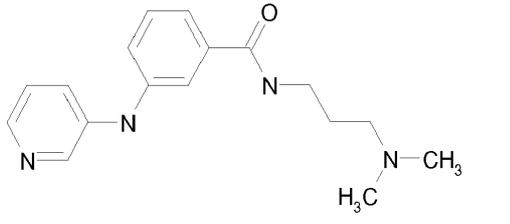
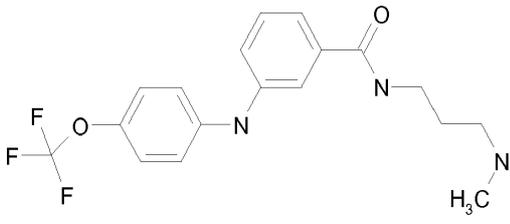
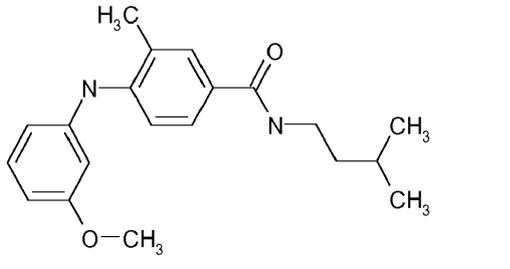
- 5 [A1.] La lista de los compuestos usados en el presente estudio se proporciona en tabla I más adelante. Los compuestos C15, C17, C20, C30-C32, C40, C42, C49, C51, C60, C62, c64, MB228, FMMB22.16, FMMB31.15, FMMB25.6, C13, FMMB25.14 son según la invención. Los compuestos restantes son ejemplos de referencia.

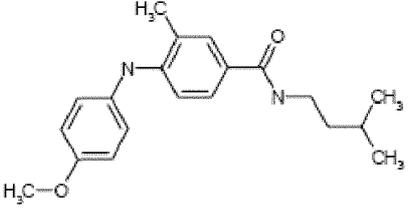
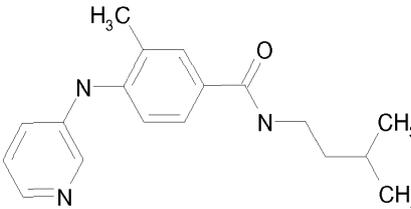
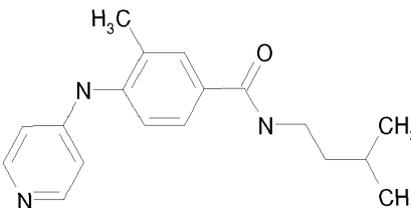
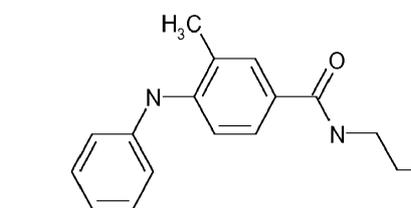
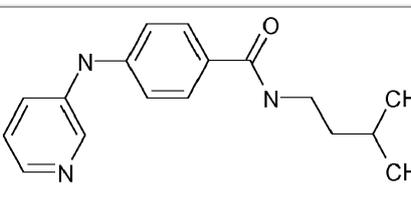
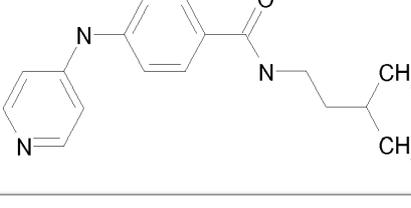
Tabla I

Compuesto	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C1		568,68 15	C32H36N6O4	N-(4-Metoxi-fenil)-2-[6-(N'-(4-Metoxifenilnicotinamido)-piridin-2-ilamino)-hexilamino]-nicotinamida
C2		298,39 11	C17H22N4O	2-(3-Dimetilaminopropilamino)-N-piridin-3-ilbenzamida
C3		321,38 5	C18H19N5O	2-(3-Imidazol-1-ilpropilamino)-N-piridin-3-ilbenzamida
C4		481,55 91	C28H27N5O3	N-(4-piridil)-2-[6-(N'-(4-piridilbenzamido)-fenilamino)-1-hidroxiutilamino]-benzamida
C5		285,35 16	C15H19N5O	2-(2-Dimetilaminoetilamino)-N-piridin-3-ilnicotinamida

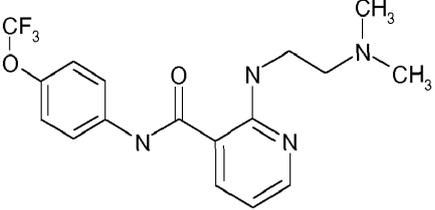
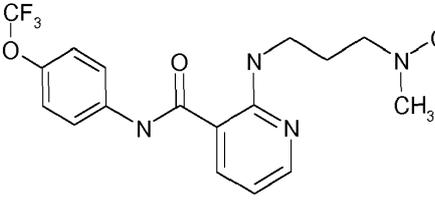
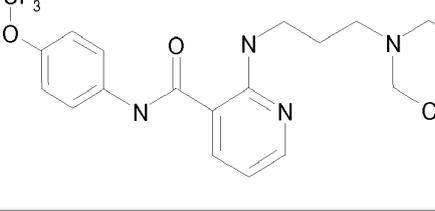
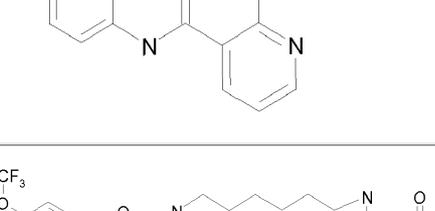
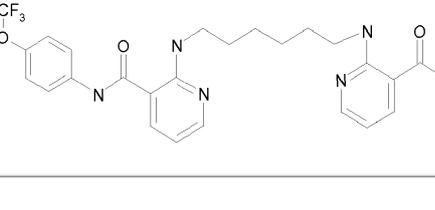
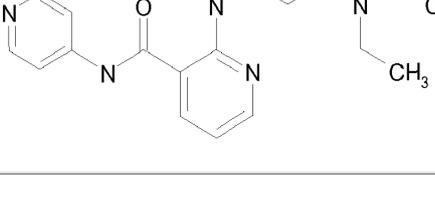
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C6		313,40 58	C17H23N5O	2-(2-Diethylaminoetilamino)- N-piridin-ilnicotinamida
C7		299,37 87	C16H21N5O	2-(3-Dimetilaminopropilamino)- N-piridin-3-ilnicotinamida
C8		327,43 29	C18H25N5O	2-(3-Diethylaminopropilamino)-N- piridin-ilnicotinamida
C9		322,37 26	C17H18N6O	2-(3-Imidazol-1- ilpropilamino)-N-piridin-3- ilnicotinamida
C10		284,36 4	C16H20N4O	N-(2-Dimetilamino-etil)-2- (piridin-4-ilamino)- benzamida
C11		296,37 23	C18H20N2O2	N-(4-Hidroxi-butil)-3-((E)-2- piridin-2-il-vinil)-benzamida

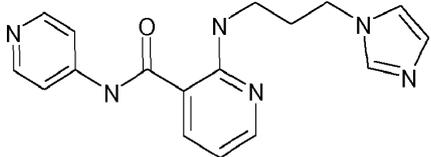
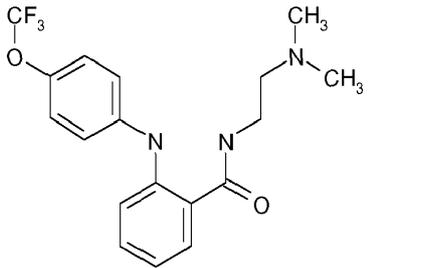
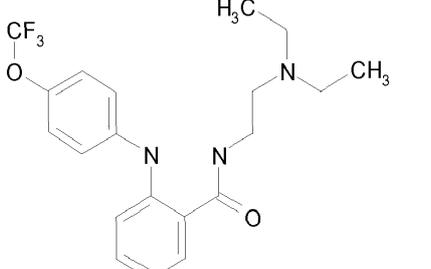
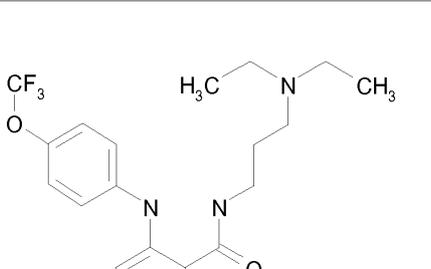
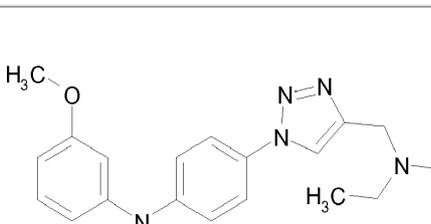
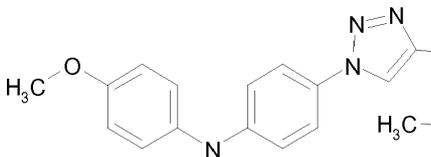
ES 2 816 178 T3

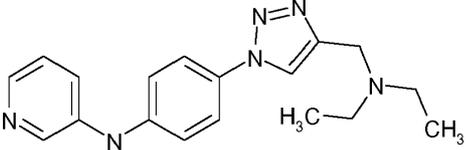
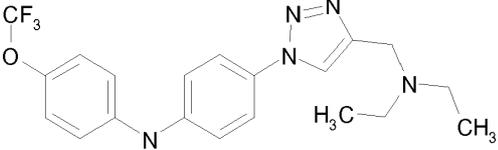
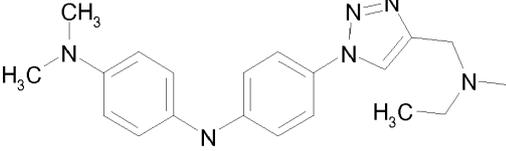
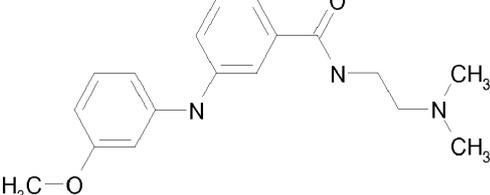
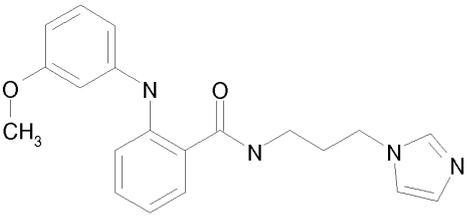
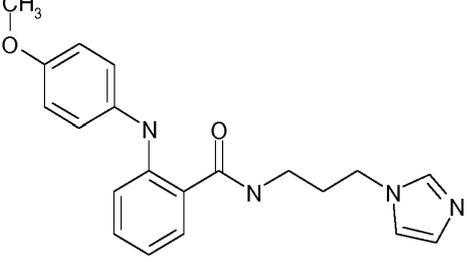
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C12		327,43	C19H25N3O2	N-(3-Dimetilamino-propil)-3-(3-metoxi-fenilamino)-benzamida
C13		327,43	C19H25N3O2	N-(3-Dimetilamino-propil)-3-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida
C14		298,39 11	C17H22N4O	N-(3-Dimetilamino-propil)-3-(piridin-3-ilamino)-benzamida
C15		381,40 13	C19H22F3N3O2	N-(3-Dimetilamino-propil)-3-(4-trifluorometoxifenilamino)-benzamida
C16		326,44 24	C20H26N2O2	4-(3-Metoxi-fenilamino)-3-metil-N-(3-metil-butil)-benzamida

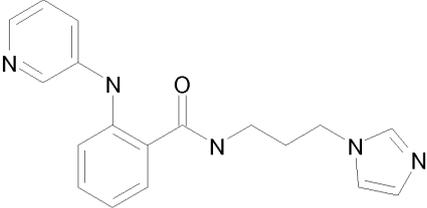
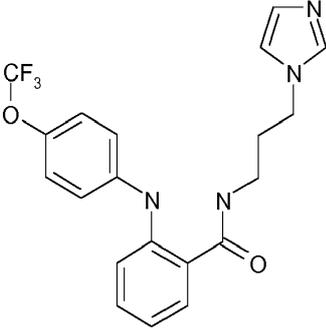
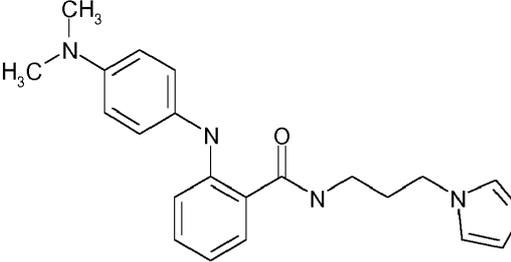
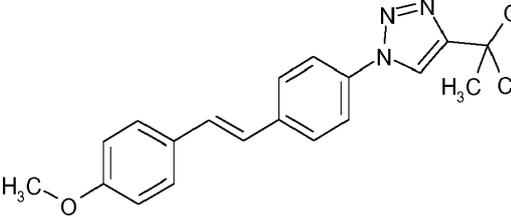
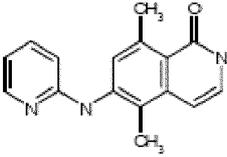
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C17		326,44 24	C20H26N2O2	4-(4-Metoxi-fenilamino)-3-metil-N-(3-metil-butil)-benzamida
C18		297,40 35	C18H23N3O	3-Metil-N-(3-metil-butil)-4-(piridin-3-ilamino)-benzamida
C19		297,40 35	C18H23N3O	3-Metil-N-(3-metil-butil)-4-(piridin-4-ilamino)-benzamida
C20		380,41 37	C20H23F3N2 O2	3-Metil-N-(3-metil-butil)-4-(4-trifluorometoxifenilamino)-benzamida
C21		283,37 64	C17H21N3O	N-(3-Metil-butil)-4-(piridin-3-ilamino)-benzamida
C22		283,37 64	C17H21N3O	N-(3-Metil-butil)-4-(piridin-4-ilamino)-benzamida

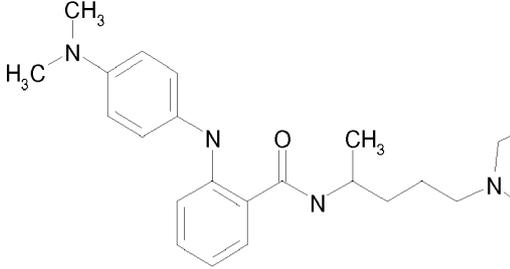
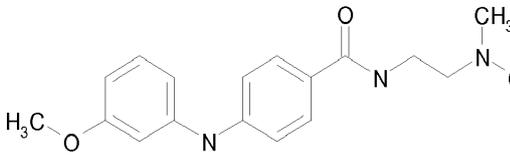
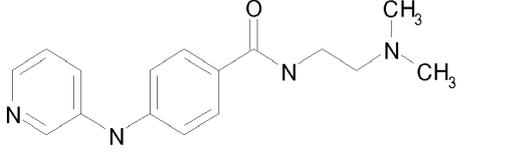
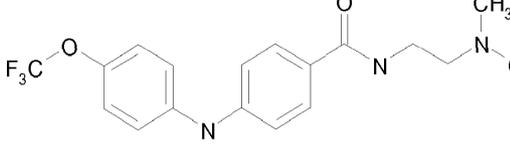
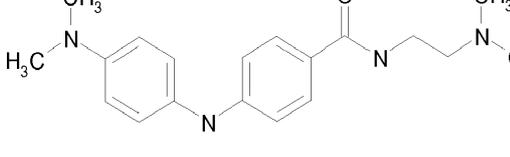
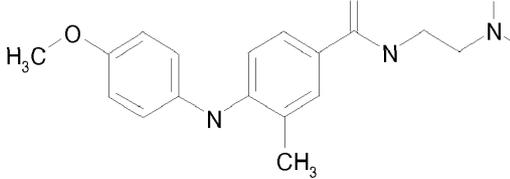
ES 2 816 178 T3

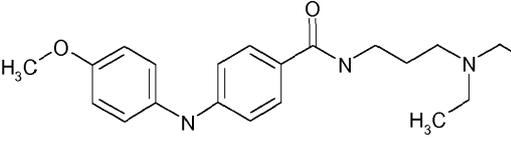
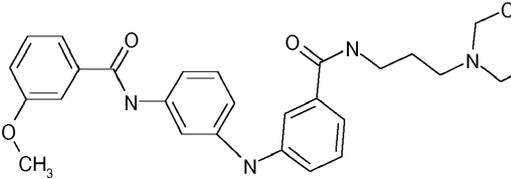
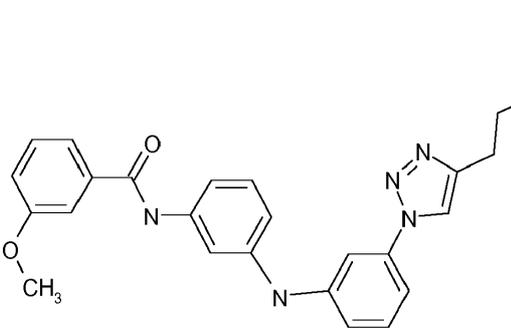
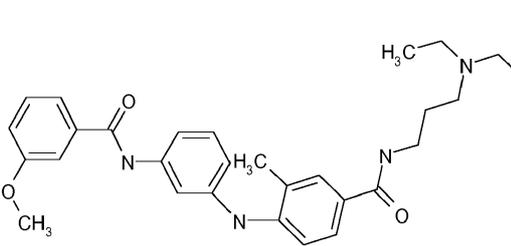
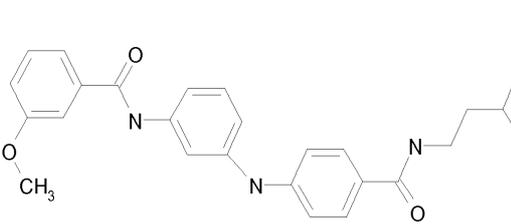
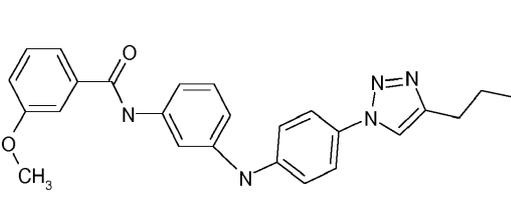
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C23		368,36 18	C17H19F3N4 O2	2-(2-Dimetilaminoetilamino)- N-(4-trifluorometoxi-fenil)- nicotinamida
C24		382,38 89	C18H21F3N4 O2	2-(3-Dimetilaminopropilamino)- N-(4-trifluorometoxi-fenil)- nicotinamida
C25		410,44 31	C20H25F3N4 O2	2-(3-Dietilaminopropilamino)-N- (4-trifluorometoxi-fenil)- nicotinamida
C26		369,34 65	C17H18F3N3 O3	2-(4-Hidroxi-butilamino)-N- (4-trifluorometoxi-fenil)- nicotinamida
C27		676,62 41	C32H30F6N6 O4	N-(4-Trifluorometoxifenil)-2- [6-(N'-(4- Trifluorometoxifenil)nicotina mido)-piridin-2-ilamino]- hexilamino]-nicotinamida
C28		327,43 29	C18H25N5O	2-(3-Dietilaminopropilamino)-N- piridin-2-ilnicotinamida

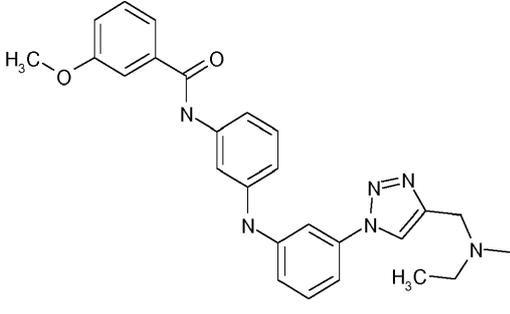
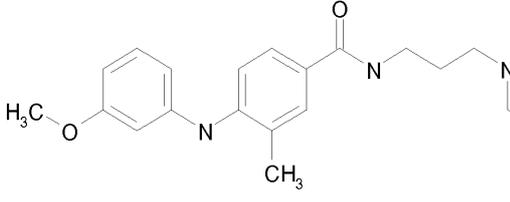
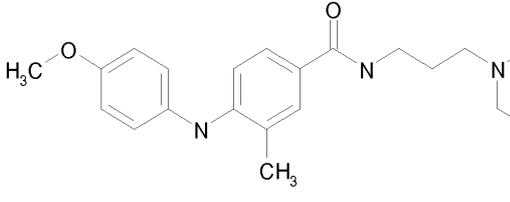
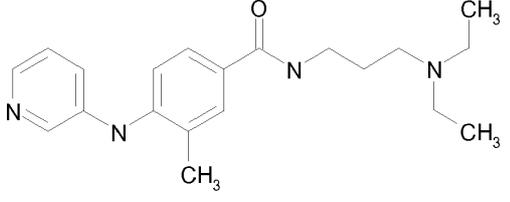
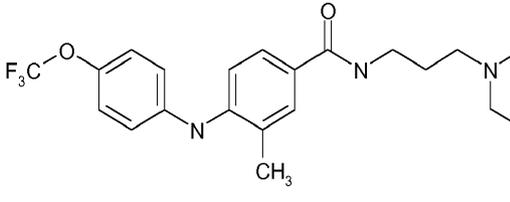
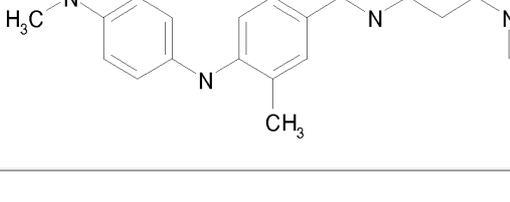
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C29		322,37 26	C17H18N6O	2-(3-Imidazol-1- ilpropilamino)-N-piridin- ilnicotinamida
C30		367,37 42	C18H20F3N3 O2	N-(2-Dimetilamino-etil)-2-(4- trifluorometoxifenilamino)- benzamida
C31		395,42 84	C20H24F3N3 O2	N-(2-Dietilamino-etil)-2-(4- trifluorometoxifenilamino)- benzamida
C32		409,45 55	C21H26F3N3 O2	N-(2-Dietilamino-propil)-2- (4- trifluorometoxifenilamino)- benzamida
C33		351,45 52	C20H25N5O	(N-Dietilamino)-{1-[4-(3- Metoxi-fenilamino)-fenil]-1H- 1,2,3-triazol-4-il}-metilamina
C34		351,45 52	C20H25N5O	(N-Dietilamino)-{1-[4-(4- Metoxi-fenilamino)-fenil]-1H- 1,2,3-triazol-4-il}-metilamina

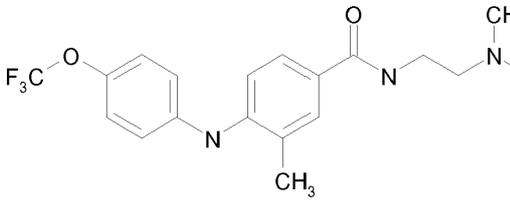
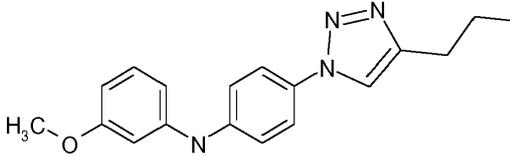
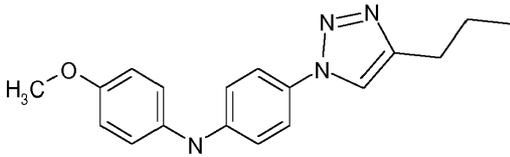
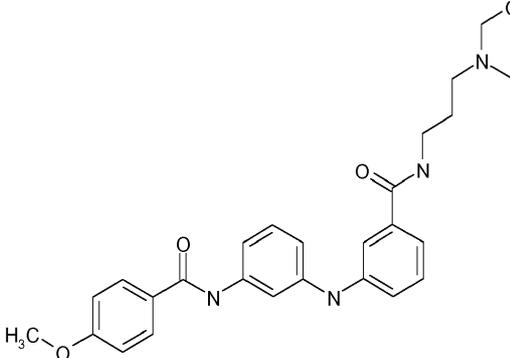
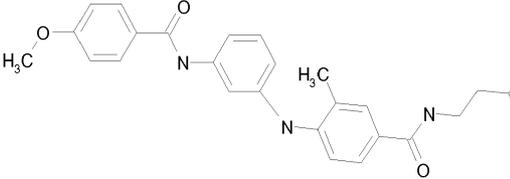
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C35		322,41 62	C18H22N6	(N-Dietilamino)-{1-[4-(piridin-3-ilamino)-fenil]-1H-1,2,3-triazol-4-il}-metilamina
C36		405,42 64	C20H22F3N5 O	(N-Dietilamino)-{1-[4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-fenil]-1H-1,2,3-triazol-4-il}-metilamina
C37		364,49 75	C21H28N6	(N-Dietilamino)-{1-[4-(4-Ndimetilaminofenilamino)-fenil]-1H-1,2,3-triazol-4-il}-metilamina
C38		313,40 29	C18H23N3O2	N-(2-Dimetilamino-etil)-3-(3-metoxi-fenilamino)-benzamida
C39		350,42 39	C20H22N4O2	N-(3-Imidazol-1-il-propil)-2-(3-metoxi-fenilamino)-benzamida
C40		350,42 39	C20H22N4O2	N-(3-Imidazol-1-il-propil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida

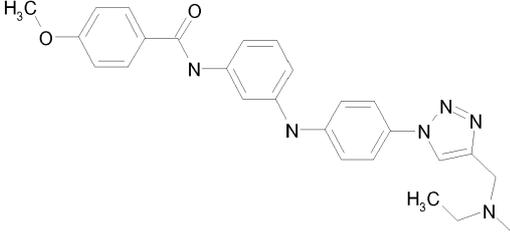
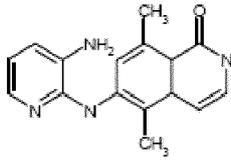
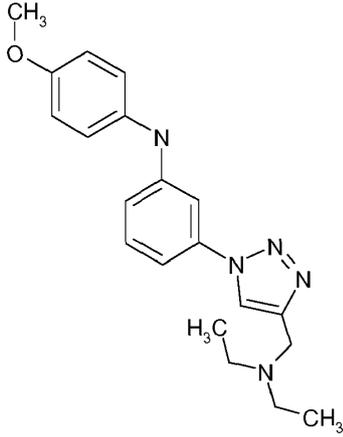
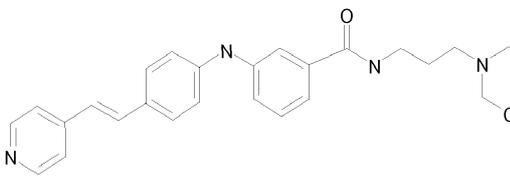
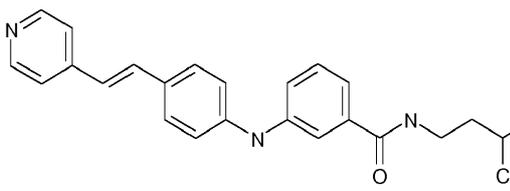
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C41		321,38 5	C18H19N5O	N-(3-Imidazol-1-il-propil)-2-(piridin-3-ilamino)-benzamida
C42		404,39 52	C20H19F3N4O2	N-(3-Imidazol-1-il-propil)-2-(4-trifluorometoxifenilamino)-benzamida
C43		363,46 63	C21H25N5O	2-(4-Dimetilaminofenilamino)-N-(3-imidazol-1-il-propil)-benzamida
C44		335,40 93	C20H21N3O2	2-(1-{4-[(E)-2-(4-Metoxifenil)-vinil]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-2-ol
C45		265,31 75	C16H15N3O	5,8-Dimetil-6-(piridin-2-ilamino)-2H-isoquinolin-1-ona

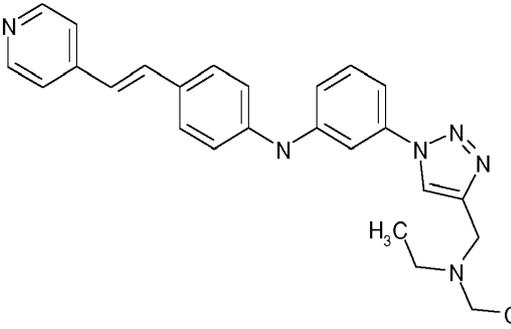
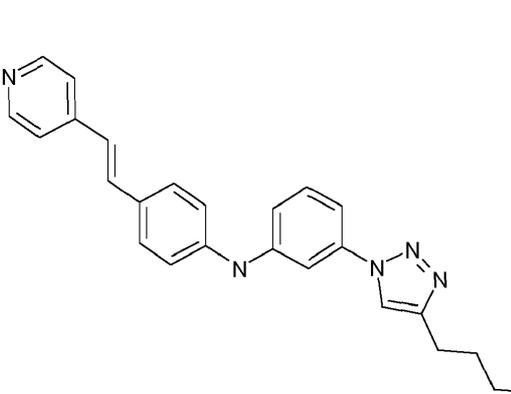
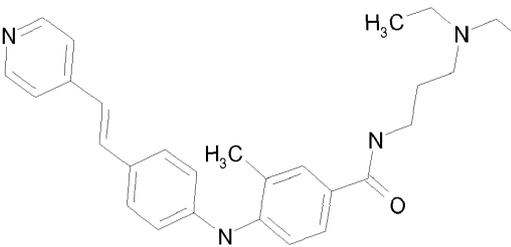
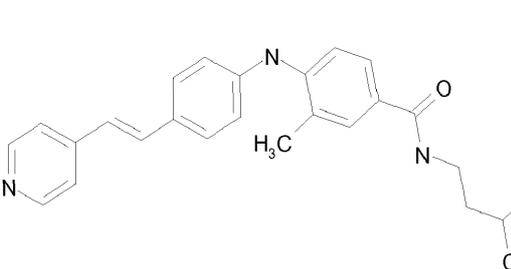
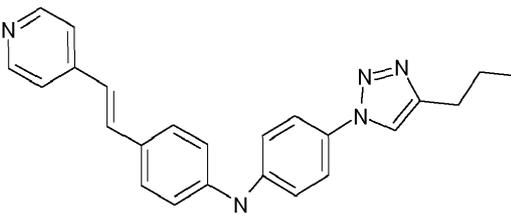
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C46		396,58 07	C24H36N4O	N-(4-Dietilamino-1-metilbutil)-2-(4-dimetilaminofenilamino)-benzamida
C47		313,40 29	C18H23N3O2	N-(2-Dimetilamino-etil)-4-(3-metoxi-fenilamino)-benzamida
C48		284,36 4	C16H20N4O	N-(2-Dimetilamino-etil)-4-(piridin-3-ilamino)-benzamida
C49		367,37 42	C18H20F3N3O2	N-(2-Dimetilamino-etil)-4-(4-trifluorometoxifenilamino)-benzamida
C50		326,44 53	C19H26N4O	N-(2-Dimetilamino-etil)-4-(4-dimetilaminofenilamino)-benzamida
C51		327,43	C19H25N3O2	N-(2-Dimetilamino-etil)-4-(4-metoxi-fenilamino)-3-metilbenzamida

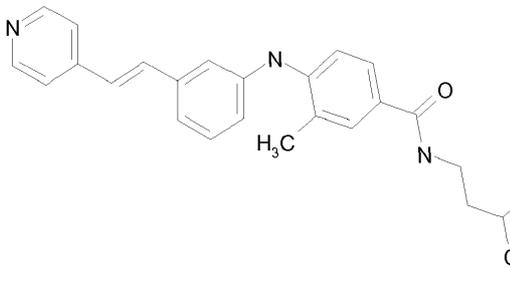
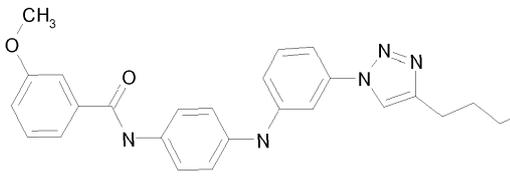
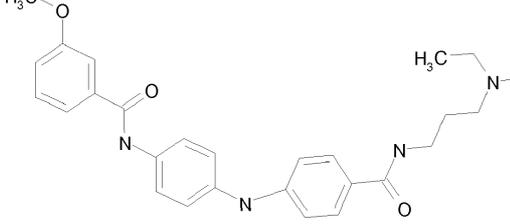
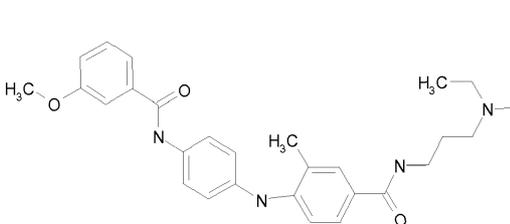
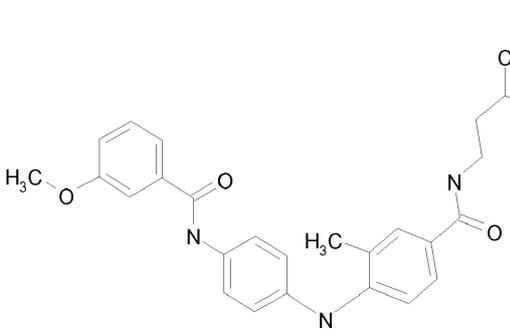
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C52		355,48 42	C21H29N3O2	N-(3-Dietilamino-propil)-4-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida
C53		474,60 82	C28H34N4O3	N-(3-Dietilamino-propil)-3-[3-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida
C54		443,50 97	C25H25N5O3	3-(1-{3-[3-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol
C55		488,63 53	C29H36N4O3	N-(3-Dietilamino-propil)-3-metil-4-[3-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida
C56		431,53 93	C26H29N3O3	N-(3-Metil-butil)-4-[3-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida
C57		443,50 97	C25H25N5O3	3-(1-{4-[3-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol

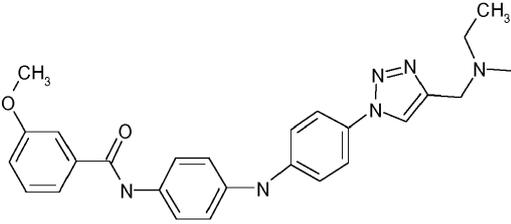
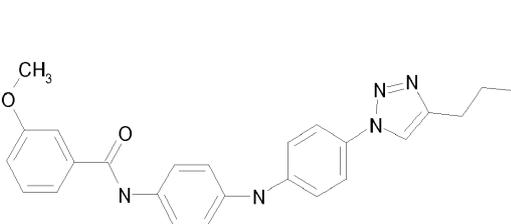
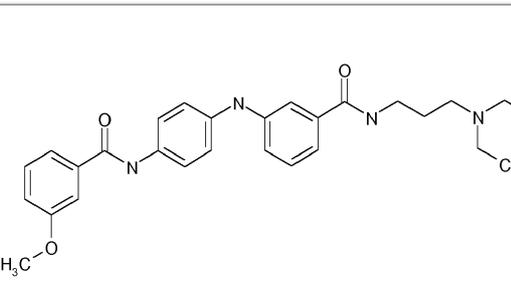
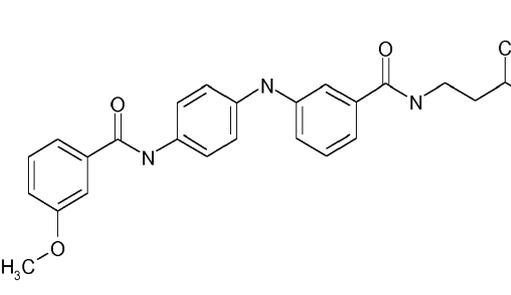
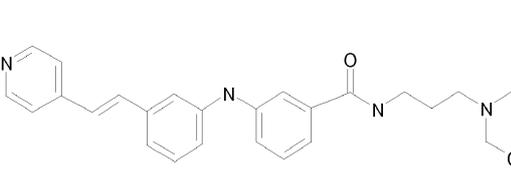
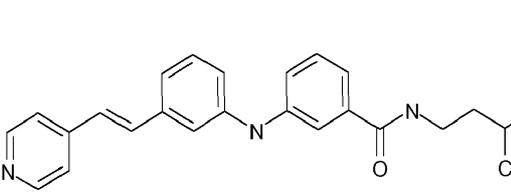
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C58		470,57 97	C27H30N6O2	(N-dietilamino)-3-(1-{3-[3-metoxibenzamido]-fenilamino}-fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-metilamina
C59		369,51 13	C22H31 N3O2	N-(3-Dietilamino-propil)-4-(3-metoxi-fenilamino)-3-metilbenzamida
C60		369,51 13	C22H31 N3O2	N-(3-Dietilamino-propil)-4-(4-metoxi-fenilamino)-3-metilbenzamida
C61		340,47 24	C20H28N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-3-metil-4-(piridin-3-ilamino)-benzamida
C62		423,48 26	C22H28F3N3 O2	N-(3-Dietilamino-propil)-3-metil-4-(4-trifluorometoxifenilamino)-benzamida
C63		382,55 36	C23H34N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-4-(4-dimetilaminofenilamino)-3-metilbenzamida

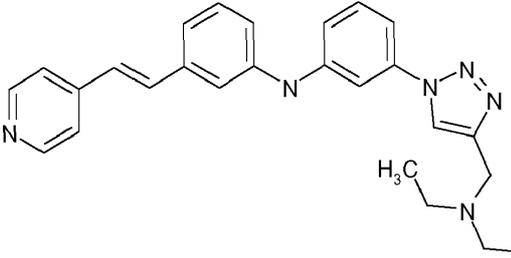
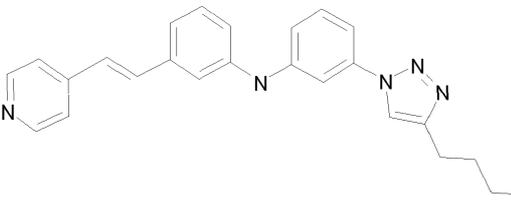
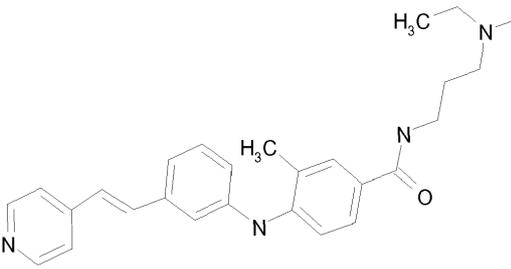
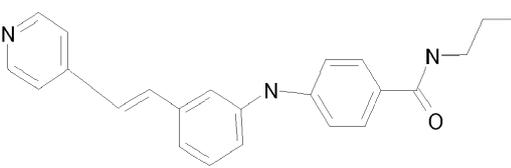
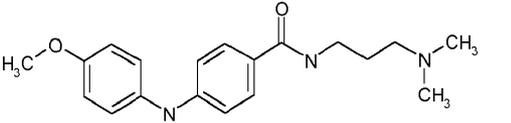
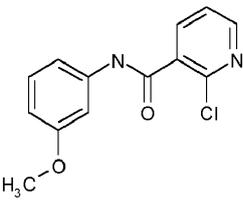
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C64		381,40 13	C19H22F3N3 O2	N-(2-Dimetilamino-etil)-3-metil-4-(4-trifluorometoxifenilamino)-benzamida
C65		324,38 57	C18H20N4O2	3-{1-[4-(3-Metoxifenilamino)-fenil]-1H-1,2,3-triazol-4-il}-propan-1-ol
C66		324,38 57	C18H20N4O2	3-{1-[4-(4-Metoxifenilamino)-fenil]-1H-1,2,3-triazol-4-il}-propan-1-ol
C67		474,60 82	C28H34N4O3	N-(3-Dietilamino-propil)-3-[3-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida
C68		445,56 64	C27H31N3O3	N-(3-Metil-butil)-3-metil-4-[3-(4-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida

Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C69		470,57 92	C27H30N6O2	(N-Dietilamino)-3-(1-{3-[(4-metoxibenzamido)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-metilamina
C70		282,34 81	C16H18N4O	6-(3-Amino-piridin-2-ilamino)-5,8-dimetil-4a,8adihidro-2H-isoquinolin-1-ona
C71		351,45 52	C20H25N5O	(N-dietilamino)-{1-[3-(4-Metoxi-fenilamino)-fenil]-1H-1,2,3-triazol-4-il}-metilamina
C72		428,58 23	C27H32N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-3-[4-((E)-2-piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-benzamida
C73		385,51 34	C25H27N3O	N-(3-Metil-butil)-3-[4-((E)-2-piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-benzamida

Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C74		424,55 33	C26H28N6	(N-Dietilamino)-3-(1-{3-[4-((E)-2-Piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-metilamina
C75		397,48 38	C24H23N5O	3-(1-{3-[4-((E)-2-Piridin-4-ilvinil)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol
C76		442,60 94	C28H34N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-3-metil-4-[4-((E)-2-piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-benzamida
C77		399,54 05	C26H29N3O	3-Metil-N-(3-metil-butil)-4-[4-((E)-2-piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-benzamida
C78		397,48 38	C24H23N5O	3-(1-{4-[4-((E)-2-Piridin-ilvinil)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol

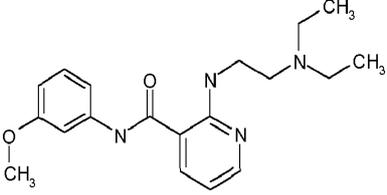
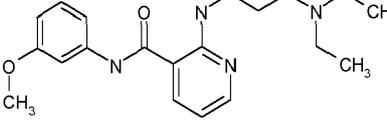
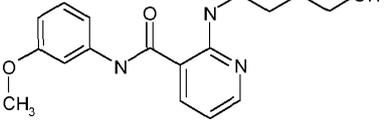
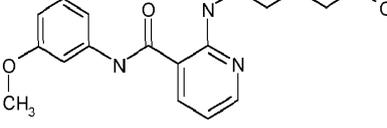
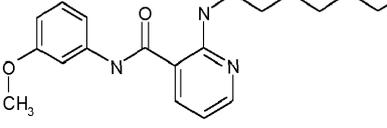
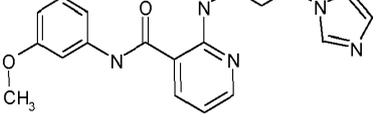
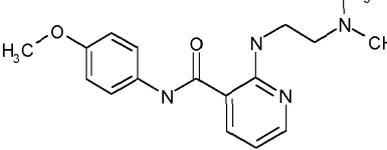
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C79		399,54 05	C26H29N3O	4-Metil-N-(3-metil-butil)-3-[3-((E)-2-piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-benzamida
C80		443,50 97	C25H25N5O3	3-(1-{4-[3-metoxibenzamido]-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol
C81		474,60 82	C28H34N4O3	N-(3-Dietilamino-propil)-4-[4-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida
C82		488,63 53	C29H36N4O3	N-(3-Dietilamino-propil)-3-metil-4-[4-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida
C83		445,56 64	C27H31N3O3	N-(3-metil-butil)-3-metil-4-[4-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida

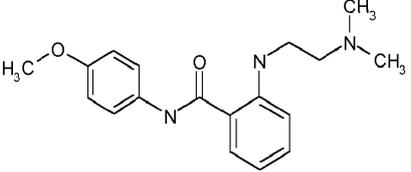
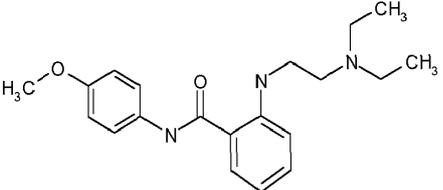
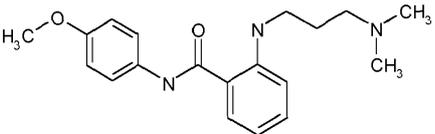
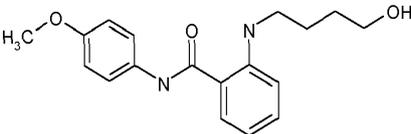
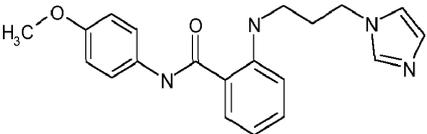
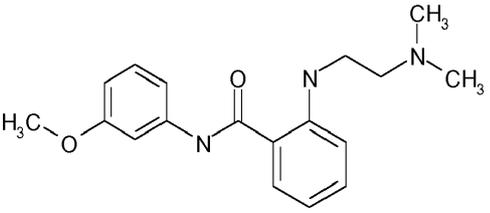
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C84		470,57 92	C27H30N6O2	(N-Dietilamino)-3-(1-{4-[4-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-metilamina
C85		443,50 97	C25H25N5O3	3-(1-{4-[3-metoxibenzamido)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol
C86		474,60 82	C28H34N4O3	N-(3-Dietilamino-propil)-3-[4-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida
C87		431,53 93	C26H29N3O3	N-(3-metil-butil)-3-[4-(3-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida
C88		428,58 23	C27H32N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-3-[3-((E)-2-piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-benzamida
C89		385,51 34	C25H27N3O	N-(3-Metil-butil)-3-[3-((E)-2-piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-benzamida

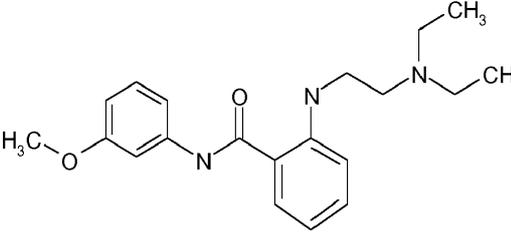
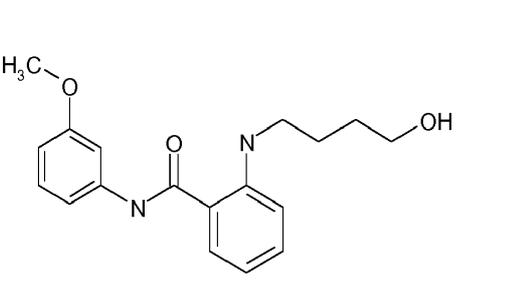
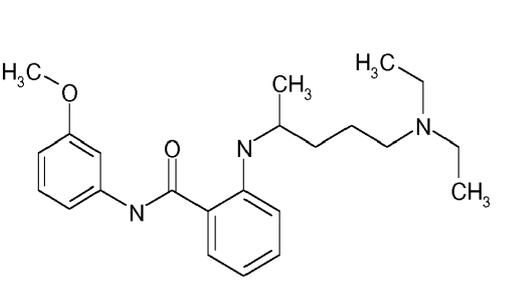
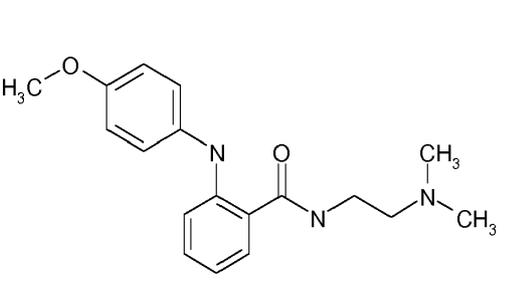
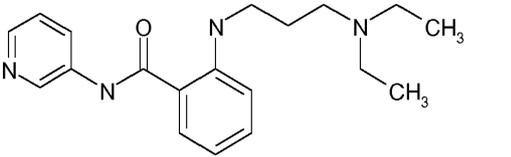
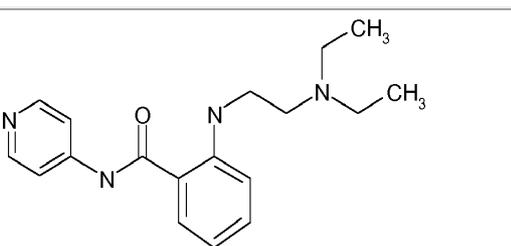
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
C90		424,55 33	C26H28N6	(N-dietilamino)-3-(1-{3-[3-((E)-2-Piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-metilamina
C91		397,48 38	C24H23N5O	3-(1-{3-[3-((E)-2-Piridin-4-ilvinil)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol
C92		442,60 94	C28H34N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-3-metil-4-[3-((E)-2-piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-benzamida
C93		385,51 34	C25H37N3O	N-(3-Metil-butil)-4-[3-((E)-2-piridin-4-il-vinil)-fenilamino]-benzamida
FMB008		327,43	C19H25N3O2	N-(3-Dimetilamino-propil)-4-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida Fórmula V
FMB080		262,69 78	C13H11ClN2O2	2-Cloro-N-(3-metoxi-fenil)-nicotinamida Fórmula III

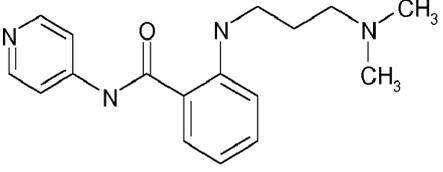
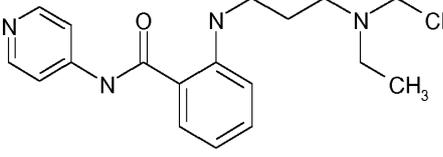
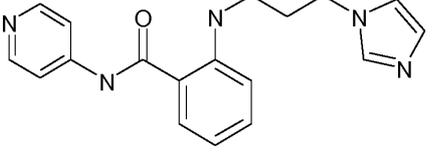
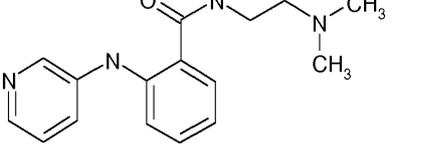
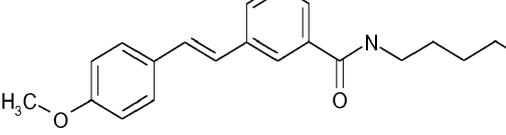
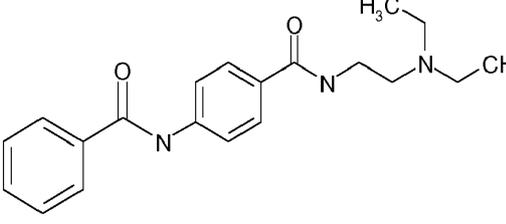
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMB085		328,41 76	C18H24N4O2	2-(3-Dimetilamino-propilamino)-N-(3-metoxi-fenil)-nicotinamida F3rmula III
FMB103		277,12 23	C12H9BrN2O	2-Bromo-N-piridin-3-il-benzamida F3rmula II
FMB104		277,12 23	C12H9BrN2O	2-Bromo-N-piridin-4-il-benzamida F3rmula III
MB228		313,78 96	C17H16ClN3 O	[4-(5-Cloro-1H-imidazol-2-il)-2-metil-fenil]-(4-metoxi-fenil)-amina F3rmula IV
MB260		262,69 78	C13H11ClN2 O2	2-Cloro-N-(4-metoxi-fenil)-nicotinamida F3rmula II
MB261		306,16 12	C14H12BrNO 2	2-Bromo-N-(4-metoxi-fenil)-benzamida F3rmula II
MB262		306,16 12	C14H12BrNO 2	2-Bromo-N-(3-metoxi-fenil)-benzamida F3rmula III

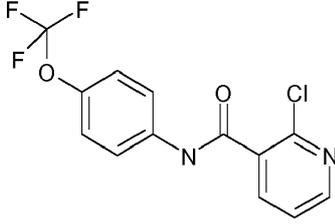
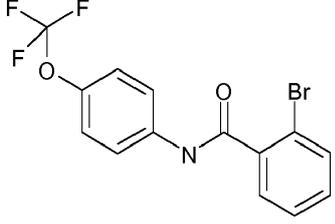
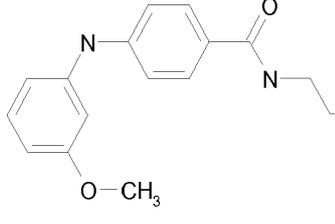
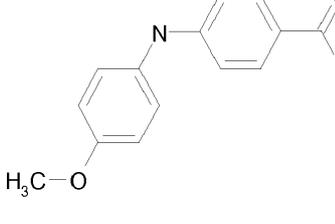
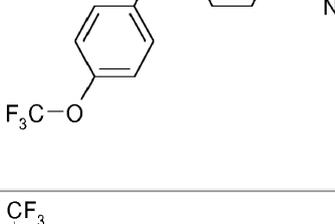
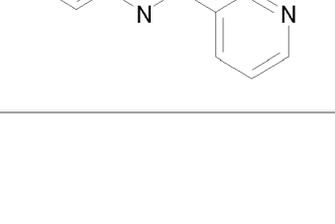
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
MB265		233,65 89	C11H8ClN3O	2-Cloro-N-piridin-4-il-nicotinamida Fórmula III
MB266		233,65 89	C11H8ClN3O	2-Cloro-N-piridin-3-il-nicotinamida Fórmula II
MB273		319,20 36	C15H15BrN2 O	2-Bromo-N-(4-dimetilamino-fenil)-benzamida Fórmula I
MB274		275,74 02	C14H14ClN3 O	2-Cloro-N-(4-dimetilamino-fenil)-nicotinamida Fórmula I
FMMB15. 1		369,46 76	C21H27N3O3	Fórmula I
FMMB15. 4		341,45 71	C20H27N3O2	N-(2-Dietilamino-etil)-4-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida Fórmula IV
FMMB17. 1		314,39 05	C17H22N4O2	2-(2-Dimetilamino-etilamino)-N-(3-metoxi-fenil)-nicotinamida Fórmula III

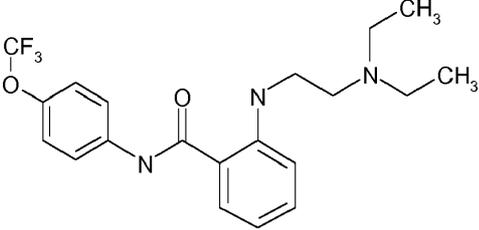
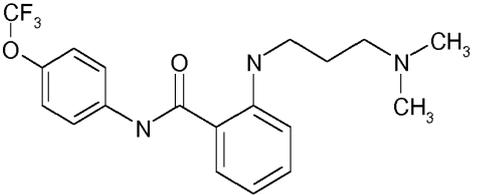
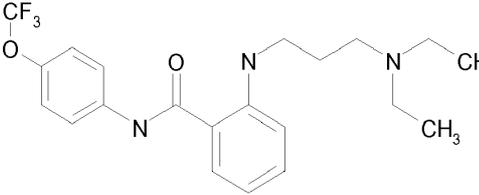
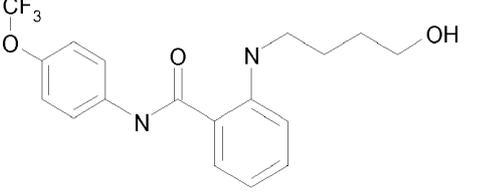
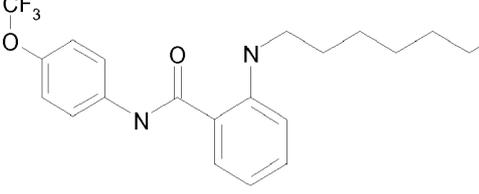
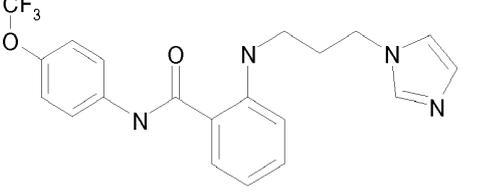
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB17. 2		342,44 47	C19H26N4O2	2-(2-Diethylamino-ethylamino)- N-(3-metoxi-fenil)- nicotinamida Fórmula III
FMMB17. 3		356,47 18	C20H28N4O2	2-(3-Diethylamino- propilamino)-N-(3-metoxi- fenil)-nicotinamida Fórmula III
FMMB17. 4		315,37 52	C17H21N3O3	2-(4-Hidroxi-butilamino)-N- (3-metoxi-fenil)- nicotinamida Fórmula III
FMMB17. 5		329,40 23	C18H23N3O3	2-(5-Hidroxi-pentilamino)- N-(3-metoxi-fenil)- nicotinamida Fórmula III
FMMB17. 6		342,44 47	C19H26N4O2	2-(6-Amino-hexilamino)-N- (3-metoxi-fenil)- nicotinamida Fórmula III
FMMB17. 7		351,41 15	C19H21N5O2	2-(3-Imidazol-1-il- propilamino)-N-(3-metoxi- fenil)-nicotinamida Fórmula III
FMMB21. 1		314,39 05	C17H22N4O2	2-(2-Dimetilamino- etilamino)-N-(4-metoxi- fenil)-nicotinamida Fórmula I

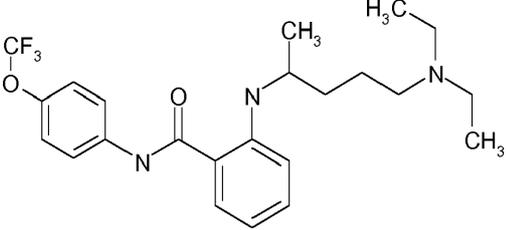
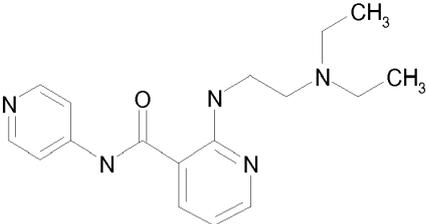
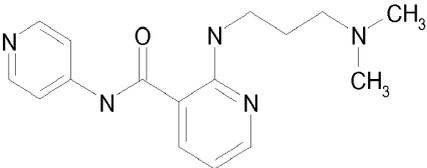
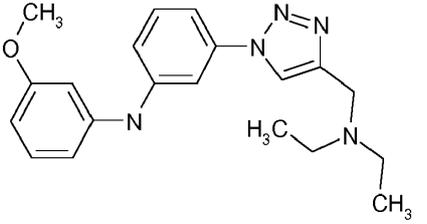
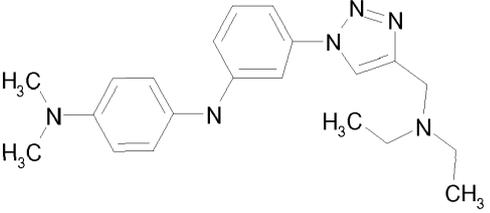
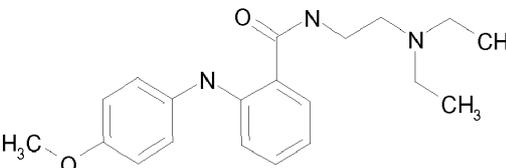
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB22. 1		313,40 29	C18H23N3O2	2-(2-Dimetilamino- etilamino)-N-(4-metoxi- fenil)-benzamida Fórmula I
FMMB22. 2		341,45 71	C20H27N3O2	2-(3-Dietilamino-etilamino)- N-(4-metoxi-fenil)- benzamida Fórmula I
FMMB22. 3		327,43	C19H25N3O2	2-(3-Dimetilamino- propilamino)-N-(4-metoxi- fenil)-benzamida Fórmula I
FMMB22. 5		314,38 76	C18H22N2O3	2-(4-Hidroxi-butilamino)-N- (4-metoxi-fenil)-benzamida Fórmula I
FMMB22. 7		350,42 39	C20H22N4O2	2-(3-Imidazol-1-il- propilamino)-N-(4-metoxi- fenil)-benzamida Fórmula I
FMMB22. 9		313,40 29	C18H23N3O2	2-(2-Dimetilamino- etilamino)-N-(3-metoxi- fenil)-benzamida Fórmula III

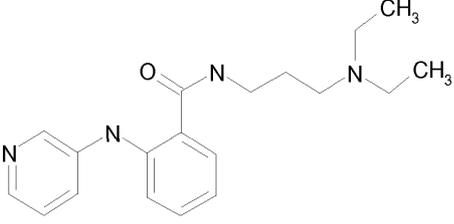
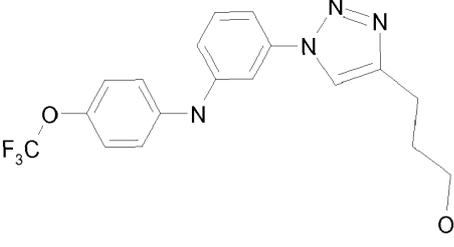
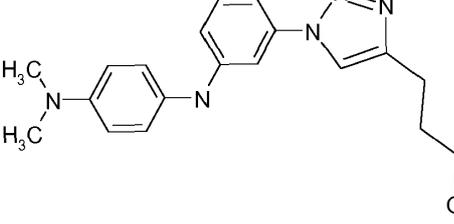
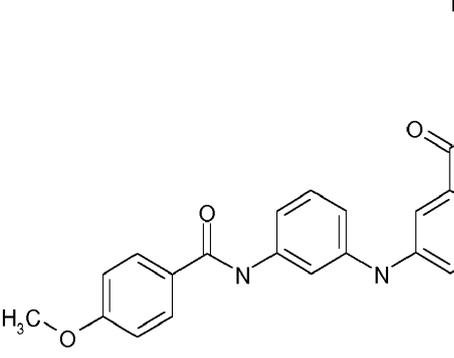
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB22. 10		341,45 71	C20H27N3O2	2-(2-Diethylamino-etilamino)- N-(3-metoxi-fenil)- benzamida Fórmula III
FMMB22. 11		314,38 76	C18H22N2O3	2-(4-Hidroxi-butilamino)-N- (3-metoxi-fenil)-benzamida Fórmula III
FMMB22. 13		383,53 84	C23H33N3O2	2-(4-Diethylamino-1-metil- butilamino)-N-(3-metoxi- fenil)-benzamida Fórmula III
FMMB22. 16		313,40 29	C18H23N3O2	N-(2-Dimetilamino-etil)-2-(4- metoxi-fenilamino)- benzamida Fórmula IV
FMMB23. 4		326,44 53	C19H26N4O	2-(3-Diethylamino- propilamino)-N-piridin-3-il- benzamida Fórmula II
FMMB23. 10		312,41 82	C18H24N4O	2-(2-Diethylamino-etilamino)- N-piridin-4-il-benzamida Fórmula III

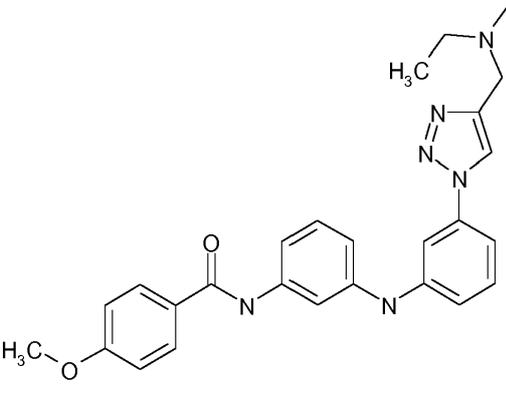
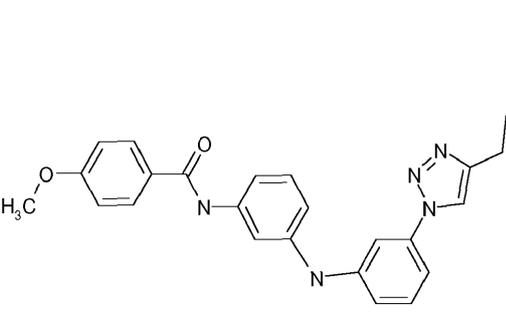
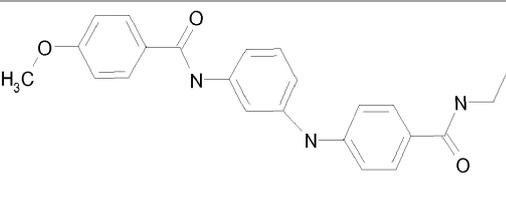
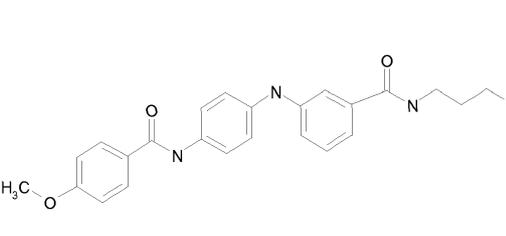
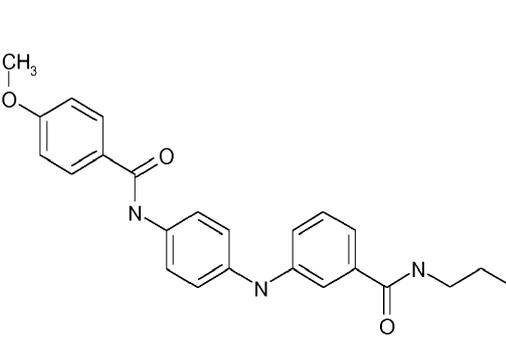
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB23. 11		298,39 11	C17H22N4O	2-(2-Diethylamino-ethylamino)- N-piridin-4-il-benzamida Fórmula III
FMMB23. 12		326,44 53	C19H26N4O	2-(3-Diethylamino- propilamino)-N-piridin-4-il- benzamida Fórmula III
FMMB23. 15		321,38 5	C18H19N5O	2-(3-Imidazol-1-il- propilamino)-N-piridin-4-il- benzamida Fórmula III
FMMB25. 3		284,36 4	C16H20N4O	N-(2-Dimetilamino-etil)-2- (piridin-3-ilamino)- benzamida Fórmula V
FMB139		325,41 12	C20H23NO3	N-(4-Hidroxi-butil)-3-[2-(4- metoxifenil)-vinil]- benzamida Fórmula VII
FMMB15. 3		339,44 12	C20H25N3O2	4-Benzoilamino-N-(2- diethylaminoetil)-benzamida Fórmula I

Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
MB317		316,66 91	C13H8ClF3N2 O2	2-Cloro-N-(4-trifluorometoxifenil)-nicotinamida F3rmula I
MB318		360,13 25	C14H9BrF3N O2	2-Bromo-N-(4-trifluorometoxifenil)-benzamida F3rmula I
FMMB31. 11		312,41 53	C19H24N2O2	4-(3-Metoxi-fenilamino)-N-(3-metil-butil)-benzamida F3rmula VI
FMMB31. 12		312,41 53	C19H24N2O2	4-(4-Metoxi-fenilamino)-N-(3-metil-butil)-benzamida F3rmula IV
FMMB31. 15		404,39 52	C20H19F3N4 O2	N-(3-Imidazol-1-il-propil)-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida F3rmula IV
FMMB32. 7		405,38 28	C19H18F3N5 O2	2-(3-Imidazol-1-il-propilamino)-N-(4-trifluorometoxi-fenil)-nicotinamida F3rmula I

Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB32. 10		395,42 84	C20H24F3N3 O2	2-(2-Diethylamino-ethylamino)- N-(4-trifluorometoxi-fenil)- benzamida Fórmula I
FMMB32. 11		381,40 13	C19H22F3N3 O2	2-(3-Dimetilamino- propilamino)-N-(4- trifluorometoxi-fenil)- benzamida Fórmula I
FMMB32. 12		409,45 55	C21H26F3N3 O2	2-(3-Diethylamino- propilamino)-N-(4- trifluorometoxi-fenil)- benzamida Fórmula I
FMMB32. 13		368,35 89	C18H19F3N2 O3	2-(4-Hidroxi-butilamino)-N- (4-trifluorometoxi-fenil)- benzamida Fórmula I
FMMB32. 14		395,42 84	C20H24F3N3 O2	2-(6-Amino-hexilamino)-N- (4-trifluorometoxi-fenil)- benzamida Fórmula I
FMMB32. 15		404,39 52	C20H19F3N4 O2	2-(3-Imidazol-1-il- propilamino)-N-(4- trifluorometoxi-fenil)- benzamida Fórmula I

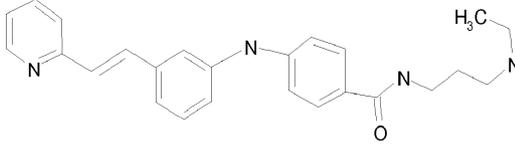
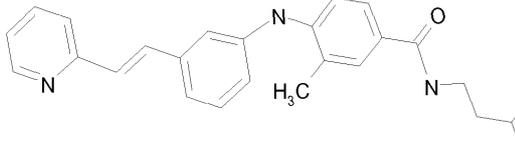
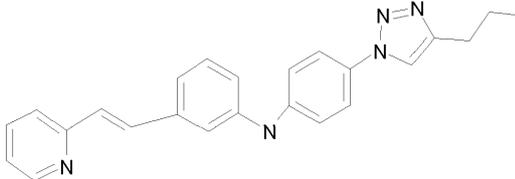
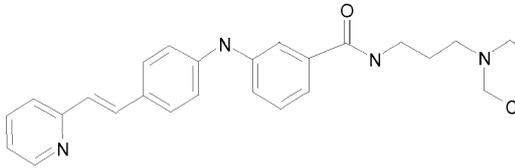
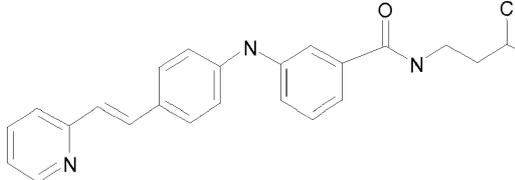
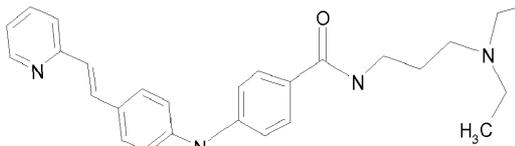
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB32. 16		437,50 97	C23H30F3N3 O2	2-(4-Diethylamino-1-metil-butilamino)-N-(4-trifluorometoxifenil)-benzamida F3rmula I
FMMB33. 2		313,40 58	C17H23N5O	2-(2-Diethylamino-etilamino)-N-piridin-4-il-nicotinamida F3rmula III
FMMB33. 3		299,37 87	C16H21N5O	2-(3-Diethylamino-propilamino)-N-piridin-4-il-nicotinamida F3rmula IIII
FMMB34. 1		351,45 52	C20H25N5O	[3-(4-Diethylaminometil-[1,2,3]triazol-1-il)-fenil]-(3-metoxi)-fenilamina F3rmula VI
FMMB34. 10		364,49 75	C21H28N6	[3-(4-Diethylaminometil-[1,2,3]triazol-1-il)-fenil]-(4-dimetilamino)-fenilamina F3rmula IV
FMMB25. 6		341,45 71	C20H27N3O2	N-(2-Diethylamino-etil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida F3rmula IV

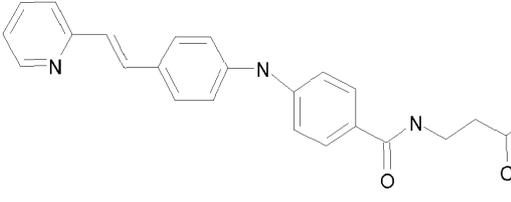
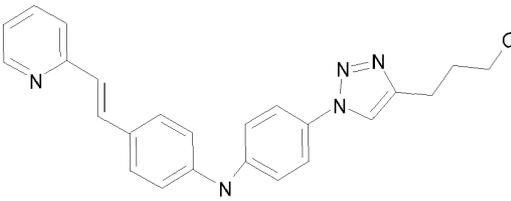
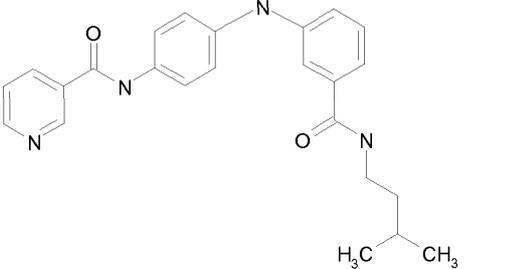
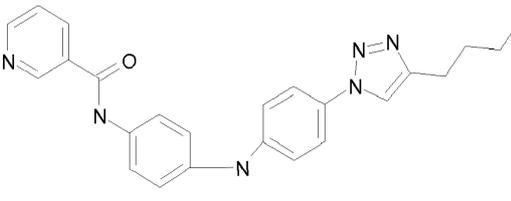
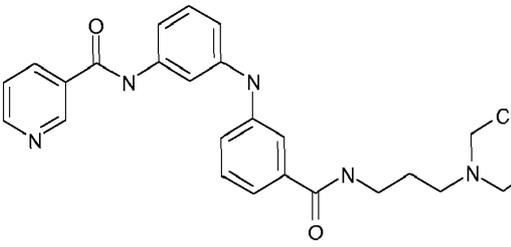
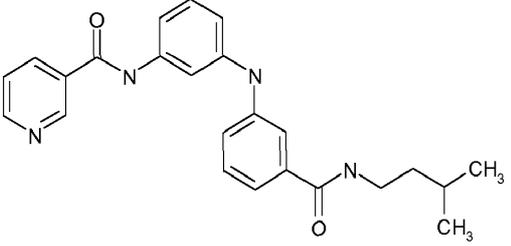
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB25. 15		326,44 53	C19H26N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-2-(piridin-3-ilamino)-benzamida F6rmula V
FMMB39. 15		378,35 7	C18H17F3N4 O2	3-{1-[3-(4-Trifluorometoxi-fenilamino)-fenil]-1H-[1,2,3]triazol-4-il}-propan-1-ol F6rmula IV
FMMB39. 16		337,42 81	C19H23N5O	3-{1-[3-(4-Dimetilamino-fenilamino)-fenil]-1H-[1,2,3]triazol-4-il}-propan-1-ol F6rmula IV
FMMB41. 2		431,53 93	C26H29N3O3	N-(3-Metil-butil)-3-[3-(4-metoxi-benzoilamino)-fenilamino]-benzamida F6rmula I

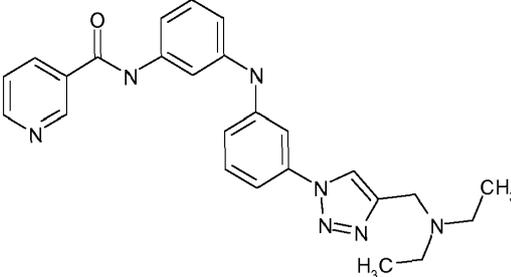
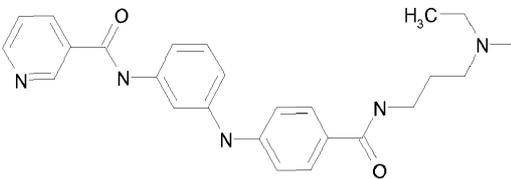
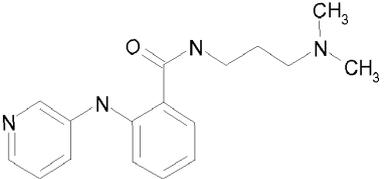
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB41. 3		470,57 92	C27H30N6O2	N-{3-[3-(4-Dietilaminometil-[1,2,3]triazol-1-il)-fenilamino]-fenil}-4-metoxi-benzamida Fórmula I
FMMB41. 4		443,50 97	C25H25N5O3	N-(3-{4-[4-(3-Hidroxi-propil)-[1,2,3]triazol-1-il]-fenilamino}-fenil)-4-metoxi-benzamida Fórmula I
FMMB41. 8		431,53 93	C26H29N3O3	N-(3-Metil-butil)-4-[3-(4-metoxibenzamido)-fenilamino]-benzamida Fórmula I
FMMB44. 1		474,60 82	C28H34N4O3	N-(3-Dietilamino-propil)-3-[4-(4-metoxi-benzoilamino)-fenilamino]-3-metil-benzamida Fórmula VI
FMMB44. 2		431,53 93	C26H29N3O3	N-(3-Metil-butil)-3-[4-(4-metoxi-benzoilamino)-fenilamino]-benzamida Fórmula VI

Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB44. 3		470,57 92	C27H30N6O2	(N-Diethylamino)-3-(1-{4-[(4-metoxibenzamido)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-metilamina Fórmula VI
FMMB44. 4		443,50 97	C25H25N5O3	3-(1-{4-[(4-metoxibenzamido)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol Fórmula VI
FMMB44. 6		488,63 53	C29H36N4O3	N-(3-Diethylamino-propil)-4-[4-(4-metoxi-benzoilamino)-fenilamino]-3-metil-benzamida Fórmula VI
FMMB44. 8		431,53 93	C26H29N3O3	N-(3-Metil-butil)-4-[4-(4-metoxi-benzoilamino)-fenilamino]-benzamida Fórmula VI
FMMB55. 1		457,62 12	C29H35N3O2	N-(3-Diethylaminol-propil)-3-[3-((E)-(4-metoxi-estiril)-fenilamino)-benzamida Fórmula IX
FMMB55. 2		414,55 24	C27H30N2O2	N-(3-Metil-butil)-3-[3-((E)-(4-metoxi-estiril)-fenilamino)-benzamida Fórmula IX

Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB55. 6		471,64 83	C30H37N3O2	N-(3-Dietilaminol-propil)-3-metil-4-[3-((E)-(4-metoxi-estiril)-fenilamino)]-benzamida Fórmula IX
FMMB55. 7		428,57 94	C28H32N2O2	N-(3-Metil-butil)-3-metil-4-[3-((E)-(4-metoxi-estiril)-fenilamino)]-benzamida Fórmula IX
FMMB55. 8		414,55 24	C27H30N2O2	N-(3-Metil-butil)-4-[3-((E)-(4-metoxi-estiril)-fenilamino)]-benzamida Fórmula IX
FMMB57. 1		428,58 23	C27H32N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-3-[3-((E)-2-piridin-2-il-vinil)-fenilamino]-benzamida Fórmula IX
FMMB57. 2		385,51 34	C25H27N3O	N-(3-Metil-butil)-3-[3-((E)-2-piridin-2-il-vinil)-fenilamino]-benzamida Fórmula IX
FMMB57. 4		397,48 38	C24H23N5O	3-(1-{3-[4-((E)-2-Piridin-4-ilvinil)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol Fórmula IX

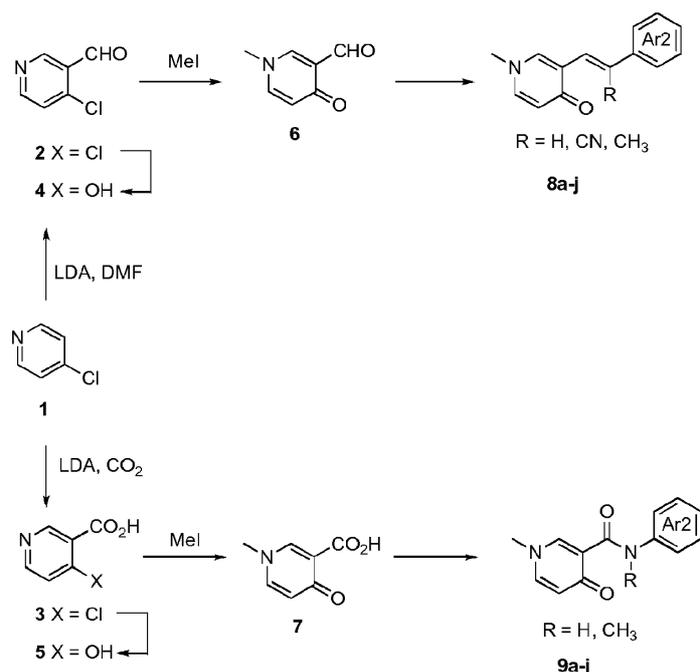
Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB57. 5		428,58 23	C27H32N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-4-[3-((E)-2-piridin-2-il-vinil)-fenilamino]-benzamida Fórmula IX
FMMB57. 7		399,54 05	C26H29N3O	N-(3-Metil-butil)-3-metil-4-[3-((E)-2-piridin-2-il-vinil)-fenilamino]-benzamida Fórmula IX
FMMB57. 10		397,48 38	C24H23N5O	3-(1-{3-[3-((E)-2-Piridin-2-ilvinil)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol Fórmula IX
FMMB53. 1		428,58 23	C27H32N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-3-[4-((E)-2-piridin-2-il-vinil)-fenilamino]-benzamida Fórmula VII
FMMB53. 2		385,51 34	C25H27N3O	N-(3-Metil-butil)-3-[4-((E)-2-piridin-2-il-vinil)-fenilamino]-benzamida Fórmula VII
FMMB53. 5		428,58 23	C27H32N4O	N-(3-Dietilamino-propil)-4-[4-((E)-2-piridin-2-il-vinil)-fenilamino]-benzamida Fórmula VII

Compuest o	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FMMB53. 8		385,51 34	C25H27N3O	N-(3-Metil-butil)-4-[4-((E)-2-piridin-2-il-vinil)-fenilamino]-benzamida Fórmula VII
FMMB53. 10		397,48 38	C24H23N5O	3-(1-{3-[4-((E)-2-Piridin-2-ilvinil)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol Fórmula VII
FMMB59. 2		402,50 04	C24H26N4O2	N-{4-[3-(3-Metil-butilcarbamoil)-fenilamino]-fenil}-nicotinamida Fórmula VI
FMMB59. 10		414,47 08	C23H22N6O2	N-{3-[3-(3-Dietilamino-propilcarbamoil)-fenilamino]-fenil}-nicotinamida Fórmula V
FMMB46. 1		445,56 93	C26H31N5O2	N-(3-Dietilamino-propil)-3-[3-(piridoil)-fenilamino]-benzamida Fórmula V
FMMB46. 2		402,50 04	C24H26N4O2	N-{3-[3-(3-Metil-butilcarbamoil)-fenilamino]-fenil}-nicotinamida Fórmula V

Compuesto	Estructura	MW	Estructura	Compuesto
FM46.3		441,5402	C25H27N7O	N-{3-[3-(4-Dietilaminometil-[1,2,3]triazol-1-il)-fenilamino]-fenil}-nicotinamida Fórmula V
FM46.5		445,5693	C26H31N5O2	N-{3-[4-(3-Dietilamino-propilcarbamoil)-fenilamino]-fenil}-nicotinamida Fórmula V
FM25.11		298,3911	C17H22N4O	N-(3-Dimetilamino propil)-2-(piridin-3-ilamino)benzamida Fórmula V
FM25.14		355,4842	C21H29N3O2	N-(3-Dimetilamino propil)-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida Fórmula V

La síntesis de los compuestos descritos en la Tabla I se describe a continuación.

Síntesis de compuestos de estilbeno (olefina)



Se obtiene 4-cloropiridina **1** mediante la neutralización de clorhidrato de 4-cloropiridina con NaOH al 10 % como se describe en SCHMID & WOLKOFF (Canadian Journal of Chemistry, tomo 50, págs. 1181-1187, 1972). Se hace reaccionar 4-cloropiridina **1** (15 mmol) en THF (250 ml) a -78°C (atmósfera de nitrógeno) con 1,2 equivalentes de diisopropilamida de litio (disolución 1,5 M en hexanos que contienen un equivalente de THF, ALDRICH) (THRASHER et al., Heterocycles, tomo 67, págs. 543-547, 2006).

La reacción del anión resultante con un exceso de DMF anhidro o un exceso de formiato de metilo permite la formación de 4-cloropiridina-3-carboxaldehído **2**, aislado en forma de un sólido incoloro (60-70 %).

Al seguir el procedimiento descrito en MARSAIS et al. (J. Het. Chem., tomo 25, págs. 81-87, 1988), el compuesto **2** se calienta durante 6 h en una disolución acuosa de 3 N HCl que contiene varias gotas de H_2O_2 al 3 %, para obtener 4-hidroxipiridina-3-carboxaldehído **4** como un sólido incoloro (>80 %).

Al seguir el procedimiento descrito en DI MARCO (Eur. J. Inorg. Chem., págs. 1284-1293, 2006), se hace reaccionar piridina aldehído **4** con un exceso de yoduro de metilo durante 2 h en DMF a 100°C para obtener el compuesto **6** aislado en forma de un sólido incoloro.

Los datos de NMR y espectros de masa para los compuestos **2**, **4** y **6** corresponden a valores encontrados en la literatura.

Finalmente, el compuesto **6** sirve como un esqueleto para la síntesis de análogos de estilbeno de IDC16, particularmente, los compuestos **8a-j**. Esta reacción implica colocar el compuesto **6**, en las condiciones clásicas de la reacción de WITTIG (ver, por ejemplo, GOPALSAMY et al., J. Med. Chem., tomo 47, págs. 1893-1899, 2004), en contacto con las sales de fosfonio requeridas obtenidas comercialmente o preparadas al hacer reaccionar el derivado de bromuro requerido con trifenilfosfina. Para todos los compuestos **8a-j**, la presencia de la geometría de unión doble E se deduce a partir de los valores del espectro 400 MHz de ^1H NMR.

Síntesis de compuestos de amida

Como se indicó anteriormente, se obtiene 4-cloropiridina **1** mediante la neutralización de clorhidrato de 4-cloropiridina con NaOH al 10 % como se describe en SCHMID & WOLKOFF (Canadian Journal of Chemistry, tomo 50, págs. 1181-1187, 1972). Se hace reaccionar 4-cloropiridina **1** (15 mmol) en THF (250 ml) a -78°C (atmósfera de nitrógeno) con 1,2 equivalentes de diisopropilamida de litio (disolución 1,5 M en hexanos que contienen un equivalente de THF, ALDRICH) (THRASHER et al., Heterocycles, tomo 67, págs. 543-547, 2006).

La reacción del anión resultante con CO_2 seco permite la formación de ácido 4-cloropiridina-3-carboxílico **3** (ácido 4-cloronicotínico), aislado como un sólido incoloro con un rendimiento de 60-80 % (ver GUILLIER et al., J. Org. Chem., tomo 60, págs. 292-296, 1995).

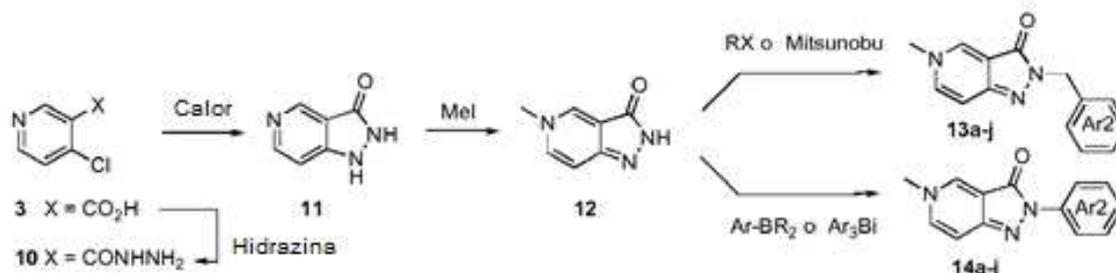
El compuesto **3** se calienta en agua (ver ROSS, J. Chem. Soc. (C), págs. 1816-1821, 1966) para obtener ácido 4-hidroxipiridina-3-carboxílico **5** como un sólido incoloro (>80 %).

El ácido **5** se hace reaccionar en presencia de un exceso de yoduro de metilo en DMF a 1000 °C durante 2 h. El compuesto **7** después se aísla como un sólido incoloro.

Los datos de NMR y espectros de masa para los compuestos **3**, **5** y **7** corresponden a valores encontrados en la literatura.

- 5 Finalmente, el compuesto **7** sirve como un esqueleto para la síntesis de análogos de amida de IDC16, particularmente, los compuestos **9a-j**. Esta reacción implica colocar el compuesto **7** en contacto con las aminas aromáticas y heteroaromáticas requeridas en condiciones clásicas para formar uniones peptídicas. Típicamente, el compuesto **7** en disolución en DMF que contiene N-metilmorfolina se hace reaccionar con cloroformiato de isobutilo (0 °C o temperatura ambiente, 1 hora), y después se aíslan los compuestos **9a-j** como sólidos incoloros con rendimientos de 60-90 %.
- 10 Estos compuestos finalmente se caracterizan mediante espectroscopía de masas y 1H NMR (400 MHz).

Preparación de análogos de IDC16 13a-j y 14a-j

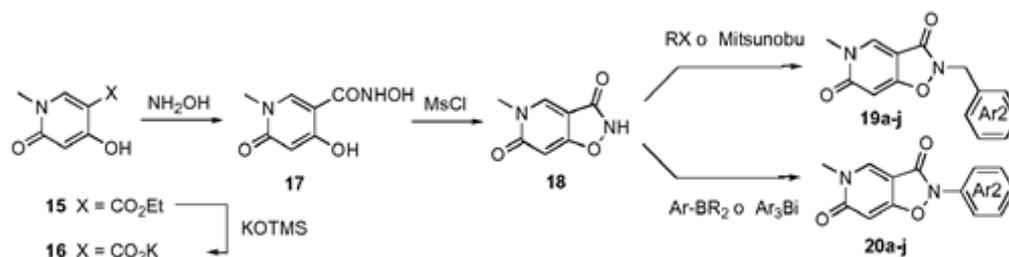


- 15 Se hace reaccionar ácido 4-cloropiridina-3-carboxílico **3** en condiciones de acoplamiento peptídico clásicas con isobutilcloroformiato (1,3 equivalentes) y N-metil morfolina (1,3 equivalentes) en DMF a temperatura ambiente y el éster activo intermediario después se trata con una disolución de hidrazina anhidra (1 equivalente; disolución 1,0 M en THF; ALDRICH) con agitación constante durante la noche (Intl. J. Peptide & Protein Res., tomo 11, págs. 297, 1978). La mezcla que contiene hidrazida **10** después se filtra para eliminar los sólidos y se calienta a 100 °C durante 2-4 horas para formar un anillo y para obtener el compuesto **11**.

- 20 El compuesto **11** se hace reaccionar en presencia de un exceso de yoduro de metilo en DMF a 1000 °C durante 2 h. El compuesto **12** después se aísla como un sólido incoloro.

El compuesto **12** se alquila para obtener los compuestos 13a-j y 14a-j según técnicas conocidas para los expertos en la técnica (ver en particular STARKOV, Tet. Letters, tomo 48, págs. 1155-1157, 2007).

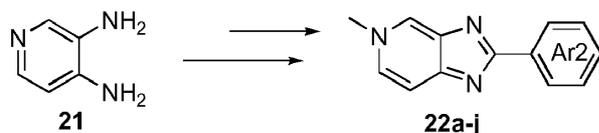
Preparación de análogos de IDC16 19a-j y 20a-j



- 25 Se prepara 4-hidroxi-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridina-3-carboxilato **15** según el protocolo descrito en WALLACE et al. (J. Med. Chem., tomo 49, págs. 441-444, 2006), después se hace reaccionar con trimetilsilanolato de potasio en THF durante 4-5 horas a 20 °C (MOTORINA et al., J. Am. Chem. Soc., tomo 23, págs. 8-17, 2001) y la sal de potasio correspondiente **16** del ácido obtenida después de la concentración al vacío se resuspende en DMF y se hace reaccionar con cloroformiato de isobutilo y N-metil morfolina (2 eq.) a temperatura ambiente y después se agrega hidroxilamina en MeOH a la mezcla (REDDY, Tet. Letters, tomo 41, págs. 6285-6288, 2000). El derivado intermediario de ácido hidroxámico **17** después se resuspende en CH₂Cl₂ que contiene isopropiletilamina y se trata con cloruro de mesilo (1 eq.) y se agita a temperatura ambiente durante 24 h. El producto deseado con un anillo cerrado **18** se produce al dejar que la reacción proceda y después el disolvente se elimina mediante secado al vacío.
- 30

- 35 El compuesto **18** se alquila para obtener los compuestos 19a-j y 20a-j nuevamente según técnicas conocidas para los expertos en la técnica (ver particularmente STARKOV, Tet. Letters, tomo 48, págs. 1155-1157, 2007).

Preparación de azabencimidazoles



Ya se conocen numerosos compuestos de fórmula **22** (aproximadamente 1500 compuestos identificados en SciFinder). Dichos compuestos se pueden obtener simplemente a partir de 3,4-daminopiridina.

- 5 Ejemplo 3: Inhibición selectiva de empalme de ARNm de VIH-1 *ex vivo* mediante compuestos según la presente invención

La eficacia de los compuestos descritos en el ejemplo 2 se evaluó al usar el plásmido pΔPSP (JACQUENET *et al.*, J. Biol. Chem., tomo 276, págs. 40464-40475, 2001), que contiene el genoma de VIH-1 provírico con una eliminación de los nucleótidos 1511 a 4550. Este plásmido pΔPSP contiene todos los sitios de empalme de VIH-1 y el uso relativo de estos diversos sitios parece similar al del virus natural.

Se cultivaron células HeLa en medio RPMI 1640 (GIBCO) complementado con suero fetal bovino en placas de 3 cm de diámetro (NUNC) hasta una confluencia del 70-80 %. Estas células después se transfectaron con el plásmido pΔPSP como se describe en JACQUENET *et al.* (2001).

15 Las células HeLa transfectadas con pΔPSP después se trataron con varias concentraciones (1,5 μM o 3 μM) de los compuestos descritos en el ejemplo 2 o de IDC16 como un testigo positivo. Como testigo negativo se incluyeron células transfectadas con pΔPSP, pero sin el tratamiento posterior (Cit).

Después se extrajo el ARN celular total con el kit RNeasy (QIAGEN) al seguir las instrucciones del fabricante. A continuación, 4 μg del ARN total experimentaron transcripción inversa con el uso del kit OMNISCRIPIT REVERSE TRANSCRIPTASE kit (QIAGEN) al seguir las instrucciones del fabricante. La mezcla después se dividió en alícuotas en placas de 96 pocillos y se sometió a amplificación al usar los cebadores de sentido BSS (5'-GGCTTGCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGG-3'; SEQ ID NO: 1), los cebadores de antisentido SJ4.7A (5'-TTGGGAGGTGGGTTGCTTTGATAGAG-3'; SEQ ID NO: 2) y cebadores para amplificar GAPDH como un testigo interno. Los cebadores BSS y SJ4.7A posibilitaron amplificar varias isoformas que surgen de varios empalmes que codifican las proteínas víricas Nef, Rev y Tat (JACQUENET *et al.*, mencionado anteriormente, 2001). Los productos de PCR después se analizaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida después de la normalización con GAPDH (SORET *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., tomo 102, págs. 8764-8769, 2005).

La Figura 1 muestra el detalle de un gel de poliacrilamida obtenido que presentó las diversas isoformas obtenidas (Nef2, Rev1, Rev2, Nef3, Nef4, Nef5, Tat1 y Tat2) para las células no tratadas (Cit) o tratadas con los compuestos IDC16, C48, C49, C55 o C56.

30 Los resultados muestran una reducción dependiente de la dosis a nivel de productos de empalme de VIH-1 para las células tratadas con compuestos C48, C49, C55 y C56, una reducción semejante a la obtenida en presencia del compuesto IDC16.

En consecuencia, los resultados, por lo tanto, muestran que los compuestos C48, C49, C55 y C56 inhiben el empalme de VIH-1 con una eficacia semejante al compuesto IDC16.

- 35 Ejemplo 4: Inhibición de la producción de VIH-1 en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) infectadas

La primera determinación es la de la concentración de compuesto que exhibe la menor cantidad de efectos secundarios en relación con la viabilidad celular y la progresión del ciclo celular.

Dentro de este marco, se aíslan células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de donantes sanos mediante centrifugación en un gradiente FICOLL. Las células después se cultivan hasta una densidad de $2,5 \times 10^6$ células/ml con medio RPMI complementado con suero AB humano al 1 % inactivado, después se incuban a 37 °C, con CO₂ al 5 % durante una hora adicional. Las células mononucleares de sangre periférica después se recuperan y se cultivan durante dos días en medio RPMI complementado con suero fetal bovino al 10 %.

Parte de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) después se cultiva durante 72 horas en presencia de timidina tritiada y fitohemaglutinina A (PHA) y en presencia o ausencia de los compuestos descritos en el ejemplo 2. Finalmente, se mide la proliferación celular en presencia de los compuestos del ejemplo 2 al determinar la incorporación de timidina tritiada en el ADN celular de las células tratadas.

Otra parte de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) que está activada (estimulada durante 2 días con PHA e IL-2) se infecta con las cepas de VIH NL4.3 o Ada-M R5. Las células después se cultivan durante 14 días en presencia de los compuestos descritos en el ejemplo 2. Finalmente, se determina la replicación vírica al cuantificar

la proteína p24 mediante el método ELISA. En paralelo, se mide la viabilidad celular mediante exclusión con azul de tripano en comparación con la de células sin tratar.

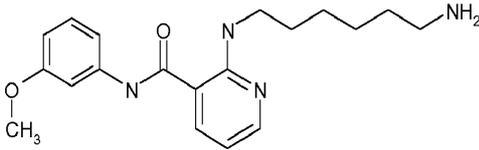
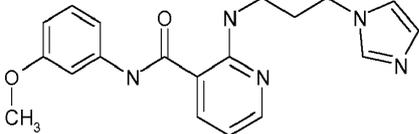
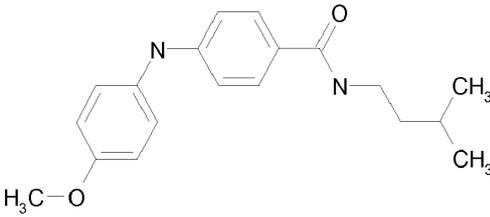
Ejemplo 5: Inhibición de la producción de VIH-1 en células macrófagos infectados

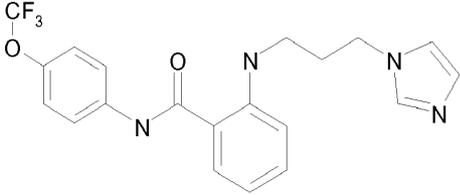
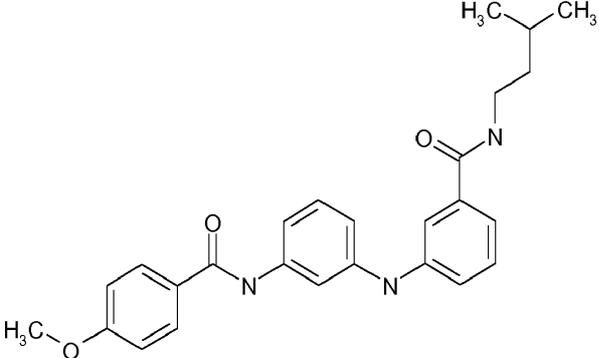
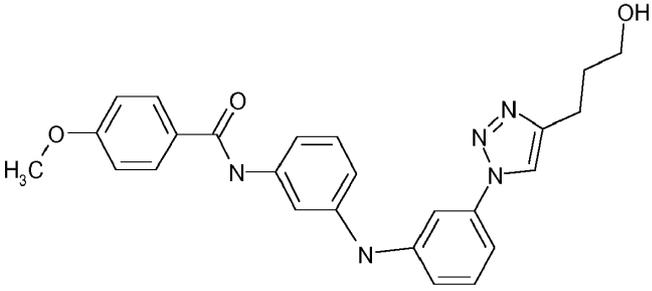
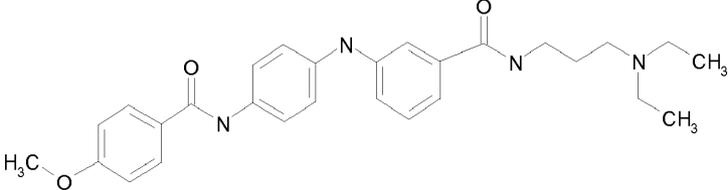
5 Para generalizar el efecto de la replicación del VIH-1 de las moléculas descritas en el ejemplo 2 a otros tipos de células, se examinaron varias etapas del ciclo vírico en células tratadas con los diversos fármacos en una concentración de 5 μM y se sometieron a infección de una tanda.

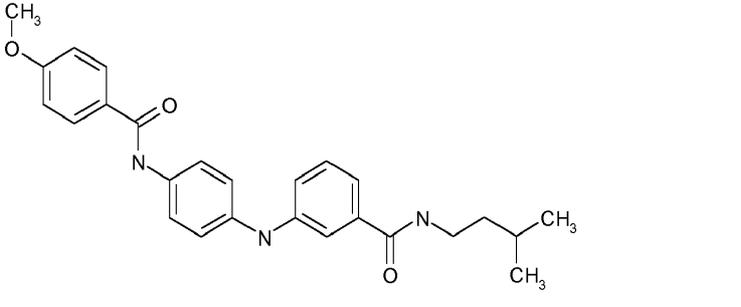
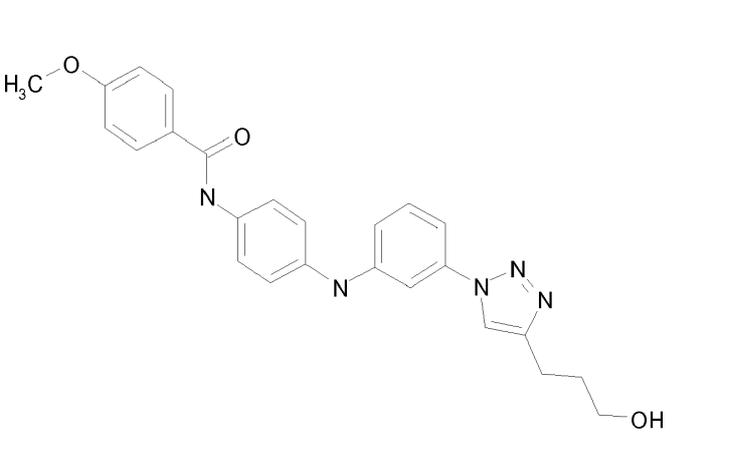
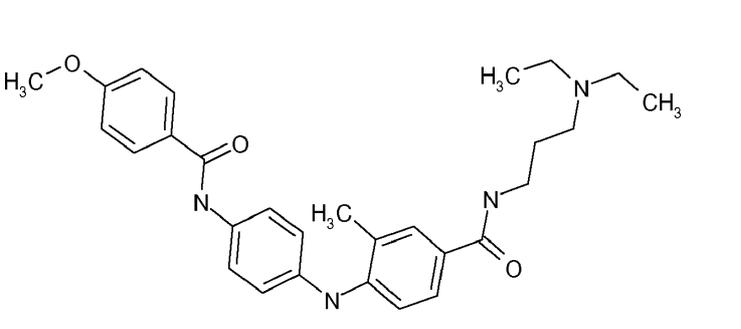
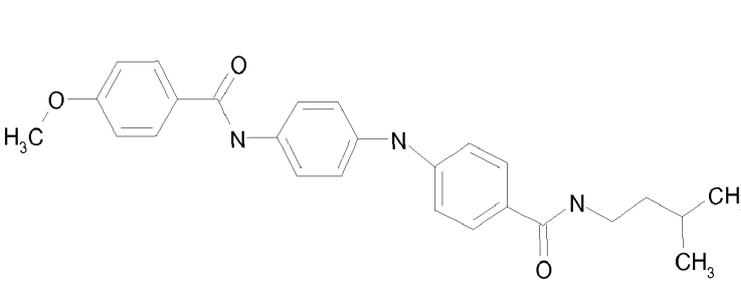
10 Para dichas experiencias, los macrófagos se pueden infectar mediante la cepa de VIH Ada-M R5 y tratar durante 18 horas con varias concentraciones de los compuestos descritos en el ejemplo 2. El medio de cultivo después se elimina y las células se lavan con abundante PBS. Después, las células se cultivan en condiciones normales. A continuación, el medio de cultivo y las células se recogen en los días 4, 7 y 14. Finalmente, se mide la replicación del virus indirectamente al determinar el nivel de antígeno p24 en el sobrenadante del cultivo y el lisado celular mediante el método ELISA. En paralelo, se mide la viabilidad celular de los macrófagos en presencia de los compuestos del ejemplo 2 como antes.

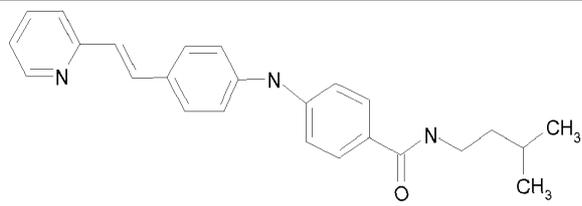
15 Con este fin, se expusieron células HOS-CD4⁺-CCR5⁺ a viriones defectuosos obtenidos al cotransfectar células 293T con un plásmido que codifica la envoltura R5 de la cepa AD8 y otro plásmido que contiene el genoma de VIH-1 entero mutado en el gen *envelope* y que alberga el gen marcador *luciferase* fusionado con *nef* (Connor RI, Chen BK, Choe S, Landau NR. (1995) Vpr is required for efficient replication of human immunodeficiency virus type-1 in mononuclear phagocytes. *Virology* 206: 935-944.). Las cantidades de la actividad de luciferasa en las células infectadas con estos viriones reflejan la cantidad de provirus integrados y la expresión de múltiples especies empalmadas que codifican nef/luc. Dos días después de la infección, se midió la actividad de luciferasa en células HOS-CD4⁺-CCR5⁺ infectadas. Cabe señalar que, el efecto inhibitorio podría ser menor en este ensayo de infección de una tanda que en otros ensayos donde se llevaron a cabo varias tandas de infección. Entre los compuestos del ejemplo 2 evaluados, 12 muestra un efector inhibitorio de luciferasa que varía entre 30 % hasta 52 %, cuyo compuesto está indicado en la tabla II.

Tabla II

Compuesto (5 μM)	Estructura	Compuesto	% de inhibición de luciferasa
FMMB17.6		2-(6-Amino-hexilamino)-N-(3-metoxi-fenil)-nicotinamida	45
FMMB17.7		2-(3-Imidazol-1-il-propilamino)-N-(3-metoxi-fenil)-nicotinamida	41
MMB31.12		4-(4-Metoxi-fenilamino)-N-(3-metil-butil)-benzamida	44

Compuesto (5 μ m)	Estructura	Compuesto	% de inhibición de luciferas a
FMMB32.1 5		2-(3-Imidazol-1-il-propilamino)-N-(4-trifluorometoxifenil)-benzamida	41
FMMB41.2		N-(3-Metil-butil)-3-[3-(4-metoxibenzoilamino)fenilamino]benzamida	35
FMMB41.4		N-(3-{4-[4-(3-Hidroxi-propil)-[1,2,3]triazol-1-il]-fenilamino}-fenil)-4-metoxibenzamida	31
FMMB44.1		N-(3-Dietilamino-propil)-3-[4-(4-metoxibenzoilamino)fenilamino]-3-metil-benzamida	57

Compuesto (5 µm)	Estructura	Compuesto	% de inhibición de luciferas a
FMMB44.2		N-(3-Metil-butil)-3-[4-(4-metoxibenzoilamino)-fenilamino]-benzamida	32
FMMB44.4		3-(1-{4-[(4-metoxibenzoilamino)-fenilamino]-fenil}-1H-1,2,3-triazol-4-il)-propan-1-ol	33
FMMB44.6		N-(3-Dietilamino-propil)-4-[4-(4-metoxibenzoilamino)-fenilamino]-3-metil-benzamida	46
FMMB44.8		N-(3-Metil-butil)-4-[4-(4-metoxibenzoilamino)-fenilamino]-benzamida	52

Compuesto (5 µm)	Estructura	Compuesto	% de inhibición de luciferasa
FMMB53.8		N-(3-Metil-butil)-4-[4-((E)-2-piridin-2-il-vinil)-fenilamino]-benzamida	33
Testigo (AZT 50 µm)	-	3'-azido-3'-desoxitimidina, zidovudina	39,5

Solo se muestran los compuestos que demostraron una toxicidad menor que 10 %.

Los resultados establecieron que en comparación con Azidotimidina (AZT, 3'-azido-3'-desoxitimidina, zidovudina) que es el primer inhibidor de transcriptasa inversa nucleosídico (NRTI, por sus siglas en inglés) aprobado para el tratamiento del VIH-1, nuestros compuestos son 10 veces más eficaces que AZT. De hecho, se requiere una concentración de 50 µM de AZT para lograr una inhibición del 32 % de luciferasa en las mismas condiciones.

Ejemplo 6: Ausencia de inhibición de empalme de genes celulares

Para identificar el efecto de los compuestos del ejemplo 2 sobre el empalme de genes endógenos, se seleccionaron 96 isoformas obtenidas después del empalme alternativo y que abarcaban una variedad de genes apoptóticos.

Las células mononucleares de sangre periférica se tratan o no con los compuestos del ejemplo 2 e IDC16 como testigo positivo como se describe en el ejemplo 3. La preparación del ARN total para cada condición de cultivo y la posterior preparación del ADNc para cada muestra de ARN después se llevan a cabo como se describe en el ejemplo 3.

La mezcla obtenida después se divide en alícuotas en placas de 96 pocillos y se somete a amplificación mediante el uso para cada pocillo de un par de cebadores de sentido y de antisentido específicos para cada isoforma.

El nivel de expresión de cada isoforma para las células tratadas con los compuestos del ejemplo 2 después se compara con el obtenido para las células tratadas con IDC16 y para las células sin tratar.

Ejemplo 7: Identificación de compuestos eficaces para tratar cánceres de mama metastásicos

Mediante empalme alternativo el proto-oncogén RON genera dos isoformas proteicas con distintas propiedades: 1) RON es un receptor de tirosina cinasa que participa en la disociación del tejido, la movilidad celular y la invasión de la matriz extracelular, 2) la isoforma truncada del receptor RON es constitutivamente activa debido a la eliminación de secuencias del exón 11. Esta isoforma truncada se expresa intensamente en células de cáncer de mama con gran capacidad metastásica y su expresión es suficiente para activar la transición epitelial-mesenquimatosa.

Para evaluar la eficacia de los compuestos descritos anteriormente para tratar el cáncer de mama metastásico, se trataron células que expresaban preferiblemente la isoforma truncada de RON con varias concentraciones de los compuestos descritos en el ejemplo 2. La eficacia de dichos compuestos después se midió al determinar el nivel de expresión de la isoforma truncada de RON en las células tratadas o sin tratar, donde los compuestos eficaces corresponden a aquellos que bajan el nivel de expresión de dicha isoforma.

Hay otros protocolos disponibles para evaluar la eficacia de los compuestos descritos anteriormente para tratar el cáncer metastásico. Uno de estos protocolos corresponde al protocolo de ensayo de curación de heridas que evalúa la migración celular.

Para imitar la migración celular durante la curación de una herida in vivo, se usó el ensayo de curación de heridas para estudiar la migración celular direccional in vitro (Rodriquer et al., Methods Mol Biol, 2005). Se trata una monocapa celular de células de cáncer de mama sembradas (MDA-MB231 Luc D3H2LN) con 5 µM de las moléculas indicadas durante 48 h antes de crear una "herida", después se capturaron imágenes al comienzo y en intervalos regulares durante la migración celular para cerrar la herida. Las imágenes se compararon con células sin tratar testigo o con compuestos que no tienen ningún efecto sobre la migración celular. Las heridas se pueden curar tan pronto como en 12-24 horas para células altamente metastásicas o puede tomar hasta 72 horas para células menos metastásicas.

Imágenes del mismo campo a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 y 24 horas hasta el cierre de toda la herida con el uso de microscopía óptica con contraste de fase (ampliaciones 10X).

La figura 2 muestra que los compuestos MB260, FMB008 y FMMB22.3 inhiben intensamente la migración celular en comparación con el testigo negativo (CTL).

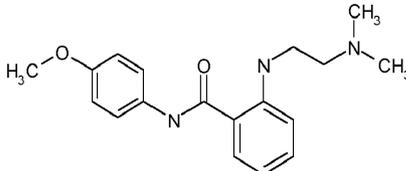
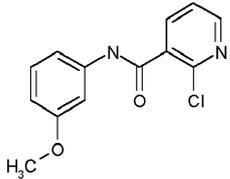
5 Ejemplo 8: Identificación de compuestos eficaces para tratar la distrofia muscular de Duchenne

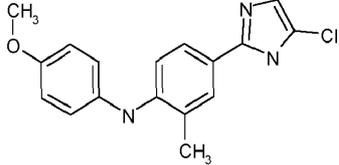
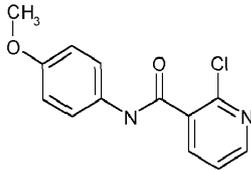
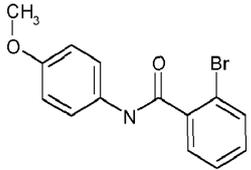
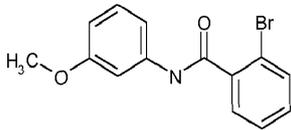
10 Como diana para la terapia génica, la distrofia muscular de Duchenne (DMD) presenta muchos obstáculos, pero también una posibilidad sin precedentes para la corrección del empalme alternativo. La distrofia muscular de Duchenne es causada por mutaciones en el gen de distrofina, que conducen a la ausencia de su expresión o a la expresión de proteínas truncadas. Más específicamente, la mayoría de las mutaciones en el gen de distrofina se producen en la región que codifica el dominio de bastón central similar a espectrina (ver día 1), que es en gran medida prescindible. El exón 51 es uno de los exones más mutados que codifican el dominio de bastón central similar a espectrina en pacientes con DMD. El salto del exón 51 puede generar un transcrito acortado, pero dentro del marco que permite la traducción de una proteína distrofina parcialmente funcional.

15 Para evaluar los compuestos de la invención, se puede usar un modelo animal de distrofia muscular de Duchenne, a saber, el ratón mdx. Más específicamente, los ratones mdx llevan una mutación del codón de terminación en el exón 23 del gen de distrofina que es responsable de extinguir completamente la expresión de la distrofina. Por lo tanto, los ratones mdx se pueden tratar con diversas concentraciones de los compuestos descritos en el ejemplo 2 y después se toman muestras de mioblastos de estos ratones para evaluar estos compuestos para determinar su capacidad para inducir el salto del exón 23 en estas células.

20 Actualmente, se evaluó esta idea al usar líneas celulares estables que expresan un reportero de luciferasa en el que se insertaron el exón 51 e intrones flanqueadores en el medio del ADNc de luciferasa. Debido a que el exón 51 se incluyó constitutivamente entre mitades de luciferasa no se detectó ninguna actividad de luciferasa en estas líneas celulares estables. En cambio, en la presencia de vectores de VAA que alojan antisentidos U7 diseñados para promover el salto del exón 51, se restauró la actividad de la luciferasa. Se usó este sistema para buscar moléculas capaces de potenciar la eficacia de los vectores de VAA. Los compuestos del ejemplo 2 se han analizado (5 µm) en este sistema y los resultados para las moléculas más eficaces se divulgan en la Tabla III.

Tabla III

Compuesto (5 µm)	Estructura	Compuesto	% de actividad de luciferasa*
FMMB21.1		2-(2-Dimetilamino-etilamino)-N-(4-metoxi-fenil)-nicotinamida	220
FMMB22.1		2-(2-Dimetilamino-etilamino)-N-(4-metoxi-fenil)-benzamida	220
FMB080		2-Cloro-N-(3-metoxi-fenil)-nicotinamida	150

Compuesto (5 μ m)	Estructura	Compuesto	% de actividad de luciferasa*
MB228		4-(5-Cloro-1H-imidazol-2-il) metil-fenil]- (4-metoxi-p amina	180
MB260		2-Cloro-N-(4-metoxi-fenil)-nicotinamida	200
MB261		2-Bromo-N-(4-metoxi-fenil)-benzamida	220
MB262		2-Bromo-N-(3-metoxi-fenil)-benzamida	180

* La actividad de la luciferasa refleja el salto del exón inducido por 5000 MOI del vector de VAA que aloja una secuencia de antisense del exón 51 del gen de distrofina

Entre los compuestos del ejemplo 2 evaluados, 7 exhibieron un aumento del doble de la actividad de luciferasa en comparación con el vector de VAA solo. Estas moléculas son, por lo tanto, un potente agente terapéutico para el tratamiento de la DMD.

5 Ejemplo 9: Identificación de compuestos eficaces para tratar el síndrome de envejecimiento precoz (progeria)

La progeria es un trastorno del desarrollo raro (con una prevalencia de aproximadamente uno en cuatro a ocho millones de nacimientos) y muy grave caracterizado por la aparición temprana de ciertas patologías a menudo desarrolladas durante el envejecimiento fisiológico, tales como aterosclerosis, diabetes tipo II resistente a la insulina, cataratas, osteoporosis y envejecimiento de la piel. El análisis de esta patología ha mostrado que es causada por la expresión anormal del gen LMNA asociado con su empalme anormal. Sorprendentemente, este mismo empalme aberrante del gen LMNA se ha hallado en sujetos ancianos sanos que no son portadores de la mutación.

Se podría mostrar que ciertos compuestos que actúan sobre el empalme son capaces de aumentar el uso del sitio de empalme del gen LMNA normal, mientras que se reduce el del sitio de empalme aberrante. Para evaluar la eficacia de los compuestos descritos en el ejemplo 2 para tratar la progeria, se trataron o no células portadoras de una mutación del gen LMNA que causa su empalme anormal con varias concentraciones de dichos compuestos. La eficacia de dichos compuestos después se midió al determinar el nivel de expresión de la isoforma anormal en las células tratadas o sin tratar, donde los compuestos eficaces corresponden a aquellos que bajan el nivel de expresión de dicha isoforma.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) institut Curie université de Montpellier 2 TAZI Jamal GRIERSON David MAHUTEAU-BETZER Florence ROUX Pierre

5 <120> MOLÉCULAS QUÍMICAS QUE INHIBEN EL MECANISMO DE CORTE PARA TRATAR ENFERMEDADES CAUSADAS POR ANOMALÍAS DE EMPALME

<130> 354042/D25558

<150> FR 0850144

<151> 2008-01-10

<160> 2

10 <170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 28

<212> ADN

<213> Artificial

15 <220>

<223> amorce PCR

<400> 1

ggcttgctga agcgcgcacg gcaagagg 28

<210> 2

20 <211> 26

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> amorce PCR

25 <400> 2

ttgggagtg ggtgcttg atagag 26

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto elegido entre el grupo que comprende:
 - N-(3-Dimetilamino-propil)-3-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;
 - 4-(4-Metoxi-fenilamino)-3-metil-N-(3-metil-butil)-benzamida;
- 5 • 3-Metil-N-(3-metil-butil)-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;
- N-(2-Dimetilamino-etil)-2-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;
- N-(2-Dietilamino-etil)-2-(4-trifluorometoxifenilamino)-benzamida;
- N-(2-Dietilamino-propil)-2-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;
- N-(3-Imidazol-1-il-propil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida;
- 10 • N-(3-Imidazol-1-il-propil)-2-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;
- N-(2-Dimetilamino-etil)-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;
- N-(2-Dimetilamino-etil)-4-(4-metoxi-fenilamino)-3-metil-benzamida;
- N-(3-Dietilamino-propil)-4-(4-metoxi-fenilamino)-3-metil-benzamida;
- N-(3-Dietilamino-propil)-3-metil-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;
- 15 • N-(2-Dimetilamino-etil)-3-metil-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;
- [4-(5-Cloro-1H-imidazol-2-il)-2-metil-fenil]-(4-metoxi-fenil)-amina;
- N-(2-Dimetilamino-etil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida;
- N-(3-Imidazol-1-il-propil)-4-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-benzamida;
- N-(2-Dietilamino-etil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida;
- 20 • N-(3-Dimetilamino-propil)-3-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida; y
- N-(3-Dimetilamino-propil)-2-(4-metoxi-fenilamino)-benzamida.

 2. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende al menos un compuesto de la reivindicación 1 y, opcionalmente, un soporte farmacéuticamente aceptable.
 3. El uso de al menos un compuesto de la reivindicación 1 en la preparación de un fármaco para tratar, en un sujeto, una enfermedad relacionada con el proceso de empalme de pre-ARN mensajeros en la célula, caracterizado porque dicha enfermedad es una enfermedad de origen vírico, preferiblemente, sida.
 - 25 4. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento, en un sujeto, de una enfermedad relacionada con el proceso de empalme de pre-ARN mensajeros en la célula, caracterizado porque dicha enfermedad es una enfermedad de origen vírico, preferiblemente, sida.

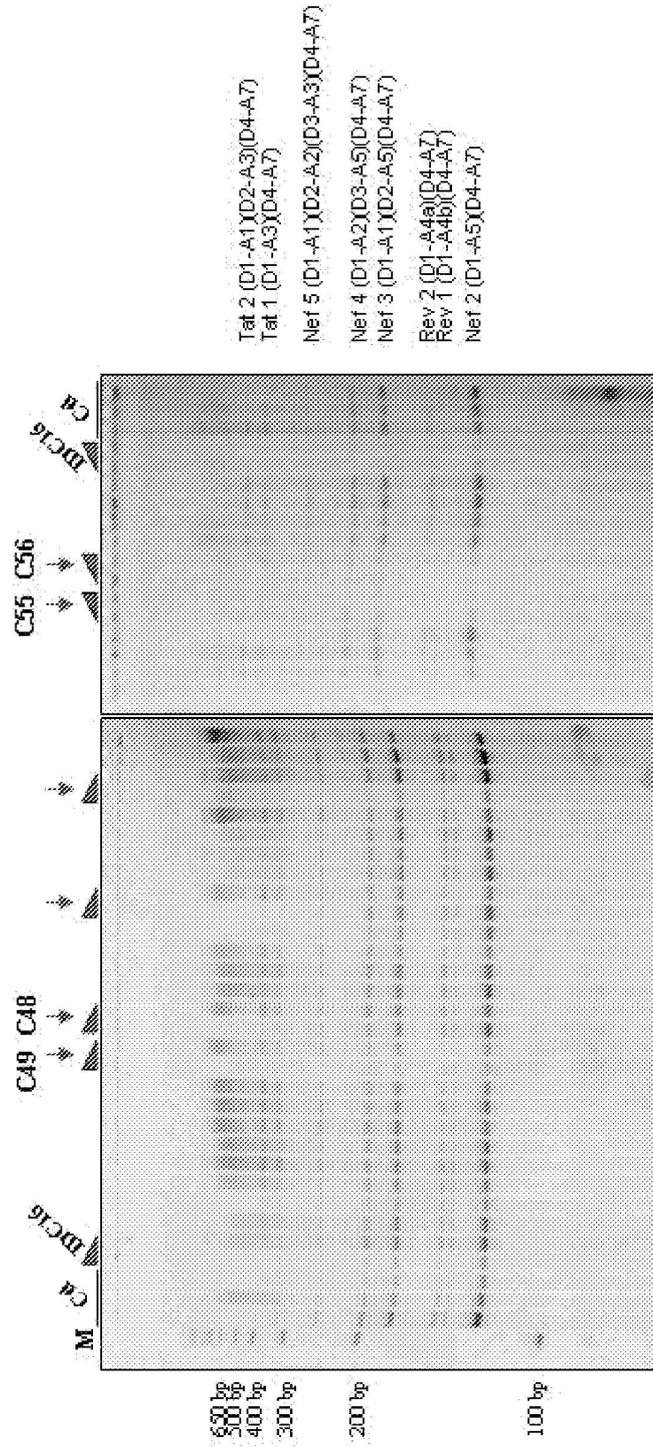


Figura 1

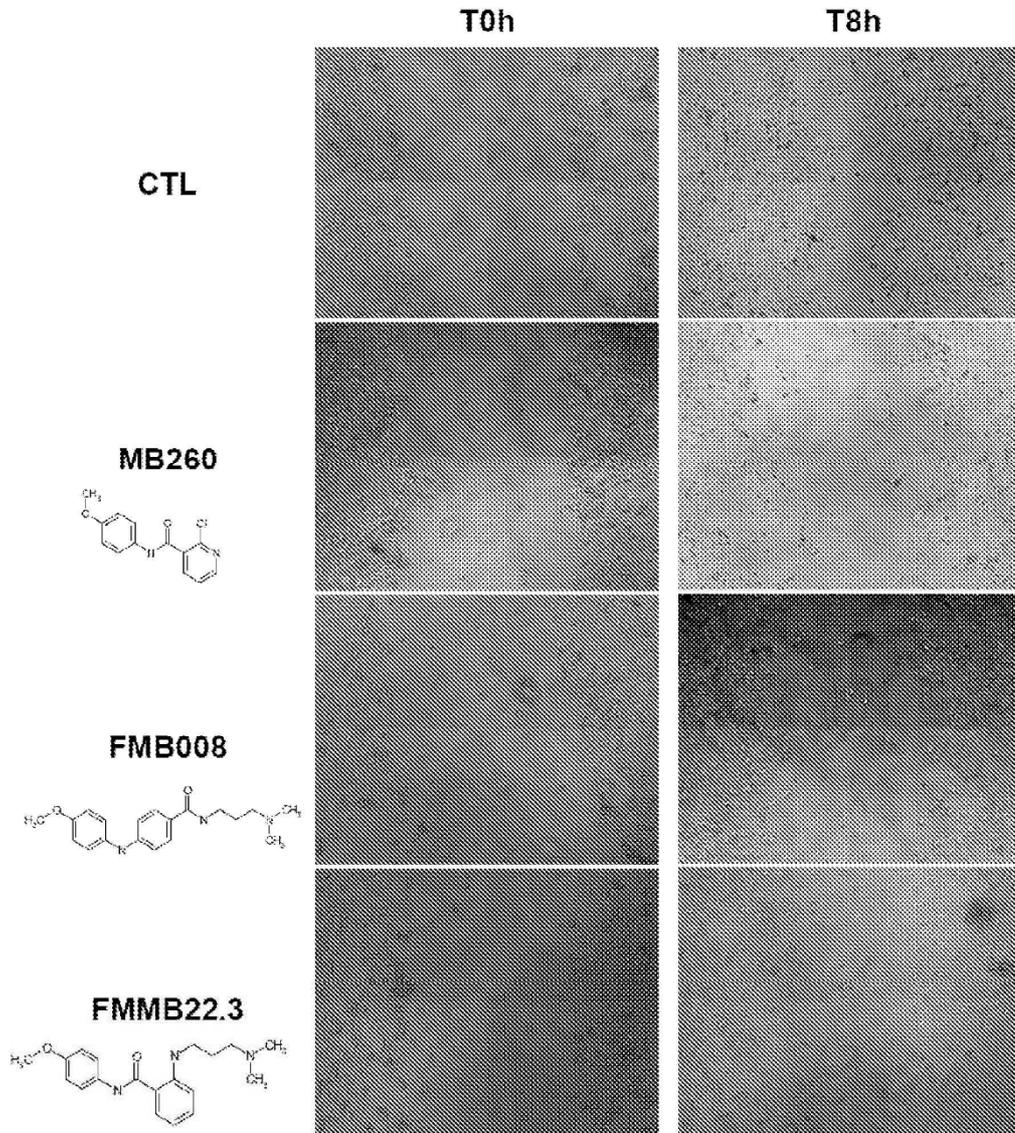


Figura 2