

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 831 112**

21 Número de solicitud: 201931084

51 Int. Cl.:

C07C 243/28 (2006.01)

A61K 31/15 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

05.12.2019

43 Fecha de publicación de la solicitud:

07.06.2021

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (60.0%)**

C/ Serrano, nº 117

28006 Madrid (Madrid) ES;

FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN

BIOMÉDICA HOSPITAL 12 DE OCTUBRE (20.0%)

y

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y

TECNOLOGÍA AGRARIA Y ALIMENTARIA (INIA)

(20.0%)

72 Inventor/es:

GIL AYUSO-GONTÁN, Carmen;

MARTÍNEZ GIL, Ana;

CAMPILLO MARTÍN, Nuria E.;

DELGADO VÁZQUEZ, Rafael;

LASALA SÁNCHEZ, Fátima;

ALONSO MARTÍ, Covadonga;

GALINDO BARREALES, Inmaculada y

CUESTA-GEIJO, Miguel Ángel

74 Agente/Representante:

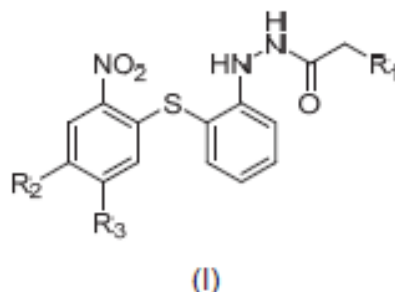
PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **Compuestos sulfurados derivados de fenilhidrazidas como agentes antivirales**

57 Resumen:

Compuestos derivados sulfurados de fenilhidrazidas como agentes antivirales.

La presente invención se refiere a derivados sulfurados de fenilhidrazidas de fórmula (1) como agentes antivirales. Estos compuestos, por tanto, son útiles para el tratamiento y/o prevención de enfermedades víricas, tales como, la enfermedad causada por el virus del Ébola y/o de la peste porcina.



ES 2 831 112 A1

DESCRIPCIÓN

Compuestos sulfurados derivados de fenilhidrazidas como agentes antivirales

5 La presente invención se refiere al uso de derivados sulfurados de fenilhidrazidas para la prevención y/o tratamiento de enfermedades víricas. De forma más particular, se refiere al uso de dichos compuestos en el tratamiento y/o prevención de la enfermedad causada por el virus del Ébola (EBOV) y/o de la peste porcina africana (PPA). Por tanto, la invención se encuadra en el campo de la química médica.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Compuestos sulfurados derivados de fenilhidrazidas ya son conocidos en el estado de la técnica. Así, por ejemplo, aparecen descritos en el documento: Corral, C.;
 15 Lissavetzky, J.; Quintanilla, G. Analogs of anti psychotic phenothiazines 10-beta di alkylamino ethylamino phenothiazines. *J Het Chem* **1978**,15, 969-975, así como en el documento ES469493, donde además se divulga su uso como agentes neurolépticos.

No se ha encontrado ningún documento donde se utilice este tipo de compuestos como
 20 agentes antivirales, especialmente para el tratamiento y/o prevención de la enfermedad causada por el virus del Ébola y/o de la peste porcina.

Actualmente, estamos asistiendo a un aumento de las enfermedades víricas emergentes y re-emergentes a nivel mundial. De hecho, las enfermedades infecciosas
 25 son una de las mayores preocupaciones de la sanidad pública tanto humana como veterinaria. Tal es el caso de la enfermedad por el virus del Ébola. Se trata de una enfermedad muy grave y contagiosa, causante de fiebre hemorrágica y con una alta tasa de mortalidad en humanos, que puede llegar a ser del 90%. A día de hoy no existen vacunas ni tratamientos aprobados para esta enfermedad, y debido a la gravedad de la
 30 infección y lo imprevisible de la aparición de nuevos brotes, la necesidad de desarrollar antivirales específicos es muy grande (Malvy, D.; McElroy, A. K.; de Clerck, H.; Gunther, S.; van Griensven, J. Ebola virus disease. *Lancet* **2019**, 393, 936-948). En el caso de infecciones veterinarias, la peste porcina africana acapara la actualidad siendo además una de las enfermedades animales de mayores repercusiones socioeconómicas. El

virus de la peste porcina africana (VPPA) produce una enfermedad hemorrágica de elevada mortalidad en el cerdo doméstico y en los jabalíes (Alejo, A.; Matamoros, T.; Guerra, M.; Andres, G. A Proteomic atlas of the African swine fever virus particle. *J Virol* **2018**, 92, doi:10.1128/JVI.01293-01218).

5

A la vista de lo conocido en el estado de la técnica, la presente invención propone un nuevo uso hasta ahora no descrito de los compuestos sulfurados derivados de fenilhidrazidas.

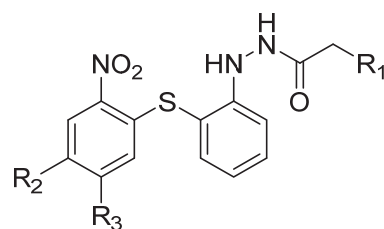
10 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención presenta una familia de compuestos que poseen actividad antiviral en orden micromolar, resultando útiles para el tratamiento de enfermedades víricas tales como las causadas por el virus del Ébola y el virus de la peste porcina

15

africana.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o cualquiera de sus isómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables



(I)

20

donde:

R_1 es NR_aR_b , donde R_a y R_b se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C_1 - C_4 o bien R_a y R_b forman un heterociclo con el N, y

R_2 y R_3 se seleccionan independientemente entre H y halógeno,

25

para su uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades víricas.

En una realización preferida, R_1 es NR_aR_b , donde R_a y R_b son independientemente alquilo C_1 - C_4 o R_a y R_b forman un heterociclo con el N.

30

Cuando R_a y R_b forman un heterociclo con el N, dicho heterociclo presenta preferiblemente 5, 6 o 7 eslabones.

En otra realización preferida de la presente invención, R_a y R_b son iguales y son grupos alquilo metilo o etilo.

En otra realización preferida de la presente invención, NR_aR_b es un grupo seleccionado de:



En otra realización preferida de la presente invención, R_a es un H y R_b es un alquilo C_1 - C_4 . Más preferiblemente, R_a es un H y R_b es un alquilo C_2 , aún más preferiblemente, R_a es un H y R_b es un alquilo C_2 sustituido por un heterociclo que comprende al menos un nitrógeno.

En otra realización preferida de la presente invención, R_2 es H y R_3 es H o halógeno.

En otra realización preferida de la presente invención, el halógeno es Cl.

En una realización más preferida de este primer aspecto, la invención se refiere al uso de los compuestos de fórmula (I) seleccionados de la lista que comprende:

- 20
- N'-(2-((4-cloro-2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(dimetilamino)acetohidrazida
 - N'-(2-((5-cloro-2-nitrofenil)thio)fenil)-2-(dietilamino)acetohidrazida
 - N'-(2-((5-cloro-2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(pirrolidin-1-il)acetohidrazida
 - N'-(2-((5-cloro-2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(piperidin-1-il)acetohidrazida
 - N'-(2-((2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(piperidin-1-il)acetohidrazida

25 Una realización preferida de la invención se refiere a los compuestos de fórmula general (I) como se han descrito anteriormente para el tratamiento y/o prevención de la enfermedad del Ébola y de la peste porcina africana.

30 La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades víricas.

En general, la cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de fórmula (I) a

administrar dependerá, entre otros factores, del individuo (humano o animal) que vaya a ser tratado, de la severidad de la enfermedad que padezca dicho individuo, de la forma de administración elegida, etc. Por este motivo, las dosis mencionadas en esta invención deben ser consideradas tan solo como guías para el experto en la materia, y éste debe
5 ajustar las dosis en función de las variables citadas anteriormente.

Los compuestos de la invención representados por la fórmula (I) para su uso pueden estar en forma cristalina como compuestos libres o como solvatos y se pretende que ambas formas estén dentro del alcance de la presente invención. En este sentido, el
10 término “solvato”, tal como aquí se utiliza, incluye tanto solvatos farmacéuticamente aceptables, es decir, solvatos del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como solvatos farmacéuticamente no aceptables, los cuales pueden ser útiles en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del solvato farmacéuticamente aceptable no es crítica
15 siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse por métodos convencionales de solvatación bien conocidos por los técnicos en la materia.

Los compuestos de fórmula (I) para su uso terapéutico se preparan en forma sólida o
20 suspensión acuosa, en un diluyente farmacéuticamente aceptable. Estos preparados pueden ser administrados por cualquier vía de administración apropiada, para lo cual dicho preparado se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. En una realización particular, la administración del compuesto de fórmula (I) se efectúa por vía oral, tópica, rectal o parenteral (incluyendo subcutánea,
25 intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.).

Los compuestos descritos en la presente invención para su uso, sus sales farmacéuticamente aceptables, solvatos así como las composiciones farmacéuticas que los contienen pueden ser utilizados junto con otros fármacos adicionales para
30 proporcionar una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden ser proporcionados en forma de una composición separada para su administración simultánea o no a la de la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

35

A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención para su uso también incluyen compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, compuestos que tienen dicha estructura, a excepción de la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o por tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido en ^{13}C o ^{14}C o un nitrógeno enriquecido en ^{15}N , están dentro del alcance de esta invención.

En la presente invención, el término “alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ ” se refiere, en la presente invención, a radicales de cadenas hidrocarbonadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 4 átomos de carbono y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, propilo, etilo, metilo, isopropilo, etc. En el contexto de la presente invención, estos radicales alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos en una o más posiciones por uno o más grupos tales como hidroxilo, aminas, amidas, oxo, ciano, halógenos, arilo, heterociclos, etc; más preferiblemente el sustituyente es un heterociclo; aún más preferiblemente, un heterociclo que comprende al menos un nitrógeno. Dicho heterociclo puede estar, a su vez, sustituido por uno o más grupos tales como hidroxilo, aminas, amidas, oxo, ciano, halógenos, arilo y/o bencilo.

El término “halógeno” se refiere en la presente invención a flúor, cloro, bromo o yodo.

La expresión “tratamiento o prevención” tal y como se usa aquí, a menos que se indique lo contrario, significa revertir, aliviar, inhibir el progreso de, o prevenir el trastorno o afección al que se aplica en tales términos, uno o más síntomas de tal trastorno o afección.

La expresión “excipientes, adyuvantes y/o vehículos” se refiere a entidades moleculares o sustancias con las que se administra el ingrediente activo. Tales excipientes, adyuvantes o vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como aguas y aceites, incluyendo aquellas de petróleo o de origen animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares, excipientes, disgregantes, agentes humectantes o diluyentes.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se

desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

5 EJEMPLOS

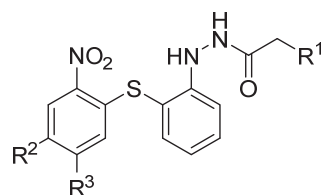
A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la efectividad como antivirales de los compuestos de la invención.

10

Para llevar a cabo los ensayos, los inventores utilizaron los compuestos representados en la siguiente tabla, todos ellos descritos en el documento: Corral, C.; Lissavetzky, J.; Quintanilla, G. Analogs of anti psychotic phenothiazines 10-beta di alkylamino ethylamino phenothiazines. *J Het Chem* **1978**,15, 969-975 y/o en el documento

15

ES469493.



(I)

Ref.	Compuesto	R ¹	R ³	R ²
1	N'-(2-((4-cloro-2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(dimetilamino)acetohidrazida		H	Cl
2	N'-(2-((5-cloro-2-nitrofenil)thio)fenil)-2-(dietilamino)acetohidrazida		Cl	H
3	N'-(2-((5-cloro-2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(pirrolidin-1-il)acetohidrazida		Cl	H
4	N'-(2-((5-cloro-2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(piperidin-1-il)acetohidrazida		Cl	H
5	N'-(2-((2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(piperidin-1-il)acetohidrazida		H	H

Ejemplo 1: Estudio de la actividad antiviral de los compuestos de fórmula (i) frente al virus de la peste porcina africana (VPPA)

Materiales y Métodos

5

Tratamiento e infección

Para la realización de los diversos ensayos, las infecciones con VPPA se realizaron sobre monocapas de células Vero (ATCC-CCL-81) (fibroblastos renales) a una
 10 multiplicidad de infección (mdi) de 5 ufp/célula. Los inóculos víricos se añadieron siempre sobre el mínimo volumen necesario para cubrir el tapiz celular, tras el tratamiento previo de las células con los compuestos durante una hora a 37 °C. Transcurrido el tiempo de pre-tratamiento, se permitió la absorción del inóculo viral durante 60 minutos a 37 °C y por último, se retiró el medio junto con el inóculo viral y se
 15 reemplazó por medio de cultivo Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con 2% suero fetal bovino (SBF) en combinación con los distintos compuestos para proseguir con el tratamiento hasta alcanzar las 16 horas post infección (hpi). Todos los compuestos se diluyeron inicialmente en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 50 mM. A continuación, se diluyeron en medio DMEM al 2% en suero
 20 fetal bovino (FBS) hasta alcanzar la concentración requerida en cada caso.

Ensayos de Citotoxicidad

La viabilidad celular en presencia de los distintos compuestos a diversas
 25 concentraciones, fue determinada a las 24 horas mediante el kit comercial “Cell titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay” (Promega) mediante la lectura de los valores de absorbancia a 490 nm, siguiendo las instrucciones del fabricante. Aquellas concentraciones que permitieron una viabilidad celular igual o superior al 80% fueron consideradas como no citotóxicas. Este sistema está basado en la cuantificación
 30 colorimétrica de la reducción del tetrazolio en formazán por la actividad de enzimas deshidrogenasas de células metabólicamente activas.

Detección y cuantificación del DNA viral

35 Posteriormente a la infección y el tratamiento con los distintos compuestos, se realizó la

extracción de las células y la posterior obtención y purificación de ADN con el kit “Dneasy blood and tissue kit” (Quiagen). Las concentraciones obtenidas se cuantificaron en el espectrofotómetro “UV-Vis Nanodrop ND-1000” (Fisher Termo Scientific).

- 5 Para el análisis de la replicación viral se realizó una PCR cuantitativa a tiempo real (qPCR) mediante sondas de hibridación fluorescentes dirigidas a amplificar la región del gen viral p72 como se ha descrito previamente (King, D. P.; Reid, S. M.; Hutchings, G. H.; Grierson, S. S.; Wilkinson, P. J.; Dixon, L. K.; Bastos, A. D.; Drew, T. W. Development of a TaqMan PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *J Virol Methods* **2003**, 107, 53-61). Para ello se analizaron las muestras de ADN purificadas previamente, utilizando como control negativo agua, como control positivo las muestras tratadas con DMSO y como curva patrón, 5 diluciones seriadas de ADN viral purificado de concentración conocida. La mezcla para la amplificación se compuso de 150 ng de ADN de cada una de las muestras, la sonda Taqman (Roche), los cebadores OE3F y OE4R cuya secuencia aparece descrita por King *et al.*, obtenidos de Fisher Scientific y “Premix Ex Taq (2X)” (Takara).

- El proceso de amplificación y cuantificación se llevó a cabo en un termociclador “ABI 7500 Fast Real-Time PCR System” (Applied Biosystems) con los siguientes parámetros:
- 20 1 ciclo de 94 °C durante 10 minutos, 45 ciclos de 94 °C durante 15 segundos y 58 °C durante 60 segundos.

Citometría de flujo

- 25 Para el análisis por citometría de flujo sin el marcaje con anticuerpos, las células fueron infectadas con los virus recombinantes realizados en el laboratorio BPP30GFP o B54GFP, descritos en Barrado-Gil, L.; Galindo, I.; Martínez-Alonso, D.; Viedma, S.; Alonso, C. The ubiquitin-proteasome system is required for African swine fever replication. *PLoS One* **2017**, 12, e018974 y en Hernaez, B.; Escribano, J. M.; Alonso, C. Visualization of the African swine fever virus infection in living cells by incorporation into the virus particle of green fluorescent protein-p54 membrane protein chimera. *Virology* **2006**, 350, 1-1, respectivamente. Transcurridas 16 hpi las células se levantaron con tripsina y se centrifugaron a 2500 rpm durante 5 minutos. Los sobrenadantes se desecharon y las células se resuspendieron en tampón FACS (del inglés, “fluorescence-activated cell sorter”). Finalmente se analizaron 10.000 células por experimento en un

citómetro de flujo “FACS Canto II” (BD Science) para determinar el porcentaje de células infectadas. El porcentaje obtenido tras el tratamiento con los compuestos se normalizó con los valores de los controles. Una vez obtenidos los resultados con las concentraciones óptimas, se calcularon las CI_{50} empleando diferentes concentraciones de compuestos.

Análisis estadístico

Todos los datos se obtuvieron por la realización por triplicado de los experimentos y la normalización de las medidas a los valores control. El análisis estadístico de la varianza entre datos se realizó con el software GraphPad Prism 6, aplicando el test de Bonferroni en las comparaciones múltiples.

Resultados

	CI_{50}^a	CC_{50}^b	IS^c
1	26.94 μ M	>100 μ M	>3.71
2	35.17 μ M	>100 μ M	>2.80
3	15.75 μ M	>100 μ M	>6.34
4	10.49 μ M	>100 μ M	>9.53
5	27.31 μ M	>100 μ M	>3.66

^a CI_{50} : Concentración inhibitoria 50% o requerida para reducir la infección viral en un 50%.

^b CC_{50} : Concentración citotóxica 50% o requerida para reducir el crecimiento celular en un 50%.

^cIS: Índice de selectividad (CC_{50}/CI_{50})

Ejemplo 2: Estudio de la actividad antiviral de los compuestos de fórmula (I) frente al virus del Ébola (EBOV)

Materiales y Métodos

Líneas celulares

Las células de riñón embrionario humano 293T/17 (ATCC-CRL-11268) y las células de adenocarcinoma cervical humano HeLa (ATCC-CCL-2) se cultivaron en medio DMEM
5 suplementado con 10% de FBS y 1% L-glutamina en incubador a 37 °C en presencia de un 5% de CO₂.

**Producción de virus recombinantes basados en el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), con envolturas (GP/G) de virus Ebola (ZEBOV) Mayinga o Virus de
10 la Estomatitis Vesicular (VSV) y que expresan luciferasa tras la infección de células susceptibles.**

Se generaron partículas virales basadas en el virus VIH, pseudotipadas con la glicoproteína de la cepa Ebola-Mayinga (GeneBank: U23187.1) (ZEBOV-GP) o bien la
15 glicoproteína del Virus de la Estomatitis Vesicular (VSV-G) (GenBank: X03633.1) que expresan la proteína luciferasa tras la infección de células susceptibles.

La producción de estas partículas virales se llevó a cabo mediante el método de transfección con cloruro de calcio (Life Technologies, Carlsbad, CA, EE. UU.) en células
20 293T añadiendo los plásmidos: pNL4.3.Luc.RE- (Programa de reactivos del SIDA de NIH, División de SIDA del Dr. Nathaniel Landau) y la respectiva glicoproteína de cada virus.

Los sobrenadantes que contenían los virus recombinantes se recogieron 48 h después
25 de la transfección, se centrifugaron a 1200 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente para eliminar los restos celulares y se almacenaron congelados a -80 °C en alícuotas.

Los títulos infecciosos de cada pseudotipo viral se estimaron realizando diluciones
30 seriadas (diluciones en serie 1:5 por triplicado) de los sobrenadantes virales e infectando células 293T. La actividad luciferasa se determinó 48 h después de la infección mediante el ensayo de luciferasa (Luciferase Assay System, Promega, Madison, WI).

Cribado de compuestos inhibidores de la infección por virus Ébola

35

El cribado de compuestos inhibidores de la entrada del virus Ébola, se realizó infectando células 293T con pseudotipos ZEBOV-GP en placas de 96 pocillos en presencia de cada compuesto a una concentración final de 10 μ M.

- 5 Las células 293T (2×10^4 células/pocillo) se incubaron a 37 °C durante 1 h con cada uno de los compuestos y luego se expusieron a 5000 TCID (dosis infecciosa de cultivo) de los virus recombinantes mencionados anteriormente. Después de 48 h de incubación, las células se lavaron con PBS, se lisaron mediante la adición de Steady-Glo Lyssis Buffer (Promega) y se midió la luz en un sistema de detección GloMax®-Multi +
10 (Promega, Madison, WI, EE. UU.) con el sistema de ensayo de luciferasa (Promega, Madison, WI).

Como control de inhibición específica, se utilizó el virus recombinante VSV-G en las mismas condiciones y en paralelo a la infección con pseudotipos de Ébola.

- 15 Los valores de inhibición se calcularon a partir de 3 experimentos independientes (n=6) y se plasman como la media aritmética.

Los compuestos cuya actividad inhibitoria frente a pseudotipos ZEBOV-GP redujeron la infección más de un 80% a una concentración final de 10 μ M, fueron seleccionados para
20 posteriores análisis (CI_{50} y citotoxicidad).

Cálculo de los valores de CI_{50}

- 25 Para calcular el valor CI_{50} , se emplearon concentraciones seriadas de cada compuesto desde 10 μ M a 10 nM.

- 30 Los valores de inhibición se calcularon utilizando la media de 3 experimentos independientes (n=6) empleando el programa informático GraphPad Prism v6.0, con un intervalo de confianza del 95% y una configuración para normalizar curvas de dosis-respuesta.

Análisis de toxicidad de compuestos

- 35 Se emplearon células Hela (2×10^4) tratadas con diferentes concentraciones: 10, 100 y 250 μ M de cada compuesto durante 48 horas en placa de 96 pocillos. Tras este periodo,

se lavaron las células con medio de cultivo y se midió la viabilidad mediante el método colorimétrico (Ensayo de proliferación celular no radiactivo Cell Titer 96 AQueous, Promega).

- 5 En resumen, 20 µl de la solución combinada de MTS/PMS (reactivo) se mezclaron con 100 µl de células en medio de cultivo y se incubaron adicionalmente durante 2 horas a 37 °C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%. La absorbancia se registró a 490 nm utilizando un lector de placas ELISA. La viabilidad celular se calculó como el porcentaje de absorbancia en las células con el compuesto en relación con las células no tratadas.

Resultados

	CI₅₀^a	CC₅₀^b	IS^c
2	4.69 µM	30 µM	6.39
3	2.04 µM	60 µM	29.41

- 15 ^aCI₅₀: Concentración inhibitoria 50% o requerida para reducir la infección viral en un 50%.

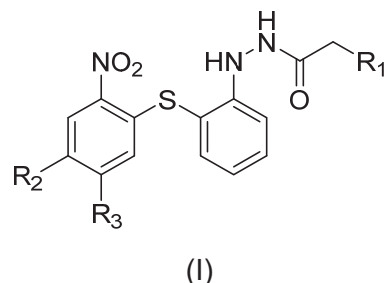
^bCC₅₀: Concentración citotóxica 50% o requerida para reducir el crecimiento celular en un 50%.

^cIS: Índice de selectividad (CC₅₀/CI₅₀)

20

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I) o cualquiera de sus isómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables



donde:

R_1 es NR_aR_b , donde R_a y R_b se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C_1 - C_4 o bien R_a y R_b forman un heterociclo con el N, y

10 R_2 y R_3 se seleccionan independientemente entre H y halógeno, para su uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades víricas.

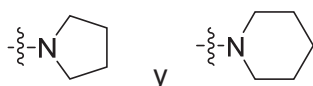
2. Compuesto para su uso, según reivindicación 1, donde R_2 es H y R_3 es H o halógeno.

15 3. Compuesto para su uso, según reivindicación cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el halógeno es cloro.

4. Compuesto para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde
20 R_1 es NR_aR_b , donde R_a y R_b son independientemente alquilo C_1 - C_4 o R_a y R_b forman un heterociclo con el N.

5. Compuesto para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde R_a y R_b son iguales y son grupos metilo o etilo.

25 6. Compuesto para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde NR_aR_b es un grupo heterociclo seleccionado entre:



30 7. Compuesto para su uso, según reivindicación 1, donde R_a es un H y R_b es un alquilo C_2 sustituido por un heterociclo que comprende al menos un nitrógeno.

8. Compuesto para su uso, según reivindicación 1, donde el compuesto es:

N'-(2-((4-cloro-2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(dimetilamino)acetohidrazida

N'-(2-((5-cloro-2-nitrofenil)thio)fenil)-2-(dietilamino)acetohidrazida

N'-(2-((5-cloro-2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(pirrolidin-1-il)acetohidrazida

5 N'-(2-((5-cloro-2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(piperidin-1-il)acetohidrazida, o

N'-(2-((2-nitrofenil)tio)fenil)-2-(piperidin-1-il)acetohidrazida

9. Compuesto para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde
las enfermedades víricas se seleccionan de enfermedad del Ébola y la peste porcina
10 africana.



- ②① N.º solicitud: 201931084
②② Fecha de presentación de la solicitud: 05.12.2019
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ES 469493 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS) 06/11/1978, página 2 compuesto (III), todo el documento	1-9
A	C CORRAL et al. Analogues of antipsychotic phenothiazines. 10beta-dialkylamino) ethylaminophenothiazines. Journal Heterocyclic Chemistry, 09/1978, Vol. 15, Páginas 969-975, tablas I y III	1-9
A	WO 2009/156535 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS Y UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID) 30/12/2009, página 17 compuesto (IV)	1-9

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
06.04.2020

Examinador
M. Fernández Fernández

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07C243/28 (2006.01)**A61K31/15** (2006.01)**A61P31/12** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07C, A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, CAS, PUBMED