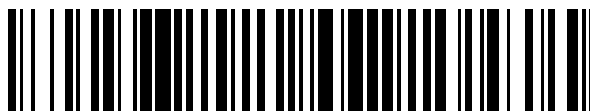


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 818**

51 Int. Cl.:

C07D 413/14 (2006.01)

A61K 31/444 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.11.2009 E 09756849 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2013 EP 2340249**

54 Título: **Derivados de poli-heteroarilo para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

31.10.2008 EP 08168104

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

05.12.2013

73 Titular/es:

INSTITUT CURIE (25.0%)

26, rue d'Ulm

75248 Paris Cedex 05;

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (CNRS) (25.0%);**

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA
RECHERCHE MEDICALE (25.0%) y**

**MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
(MNHN) (25.0%)**

72 Inventor/es:

NGUYEN, CHI-HUNG;

ROUCHON DAGOIS, MYRIAM;

GUEDIN-BEAUREPAIRE, AURORE;

MONCHAUD, DAVID;

TEULADE-FICHO, MARIE-PAULE;

RIOU, JEAN-FRANÇOIS;

MERGNY, JEAN-LOUIS y

GRIERSON, DAVID

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 432 818 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

Derivados de poli-heteroarilo para el tratamiento del cáncer

La presente invención se refiere a derivados poli-heteroarílicos que se unen a y estabilizan específicamente ADN cuádruplex. La invención también hace referencia a las sales farmacéuticamente aceptables de tales compuestos, y a los procedimientos para la preparación de composiciones farmacéuticas que los contienen. "Poliheteroarilo" según se utiliza en la descripción y las reivindicaciones representa una secuencia/cadena que consiste en radicales heterocíclicos aromáticos, incluyendo opcionalmente uno o varios radicales fenileno y/o que tienen grupos fenilo terminales en el extremo.

El ADN cuádruplex de G se considera actualmente un elemento estructural capaz de regular la función de secuencias ricas en G. En particular, muchas líneas de evidencia sugieren que la formación de esta peculiar estructura de ADN en los telómeros o en promotores de genes específicos en una variedad de oncogenes humanos, incluyendo c-Myc, Bcl-2, VEGF, Hif-1a, Ret, c-Kit, PDGF-A, KRAS y c-Myb (1) puede inhibir la proliferación de las células cancerosas.

El ADN telomérico de las células humanas comprende repeticiones en tándem de la secuencia 5'-TTAGGG-3', que termina en su lado 3' en un saliente de una sola hebra que se demostró que se plegaba en una estructura cuádruplex de G *in vitro*. Se postula que la formación de semejante estructura cuádruplex *in vivo* conduce al desplazamiento de las proteínas protectoras normalmente asociadas con los telómeros (complejo de shelterina), interrumpiendo por lo tanto la estructura telomérica que conduce a la inestabilidad genómica.

Para los promotores de oncogenes, se espera que la estabilización del cuádruplex desorganice el entorno local de los factores proteicos que regula la expresión génica y ha sido bien documentado para c-myc (1). Por consiguiente la intervención química capaz de inducir o estabilizar la formación de ADN cuádruplex se ha investigado minuciosamente a través de aglutinantes cuádruplex de moléculas pequeñas, con el objetivo de controlar las funciones relacionadas con el ADN (elongación del telómero, transcripción de oncogenes) en particular en células cancerosas.

Los compuestos que interactúan con el ADN cuádruplex de G son actualmente abundantes en la bibliografía, como ilustra el número de revisiones recientes dedicadas a ellos (2-9). Sin embargo, solamente unos pocos compuestos presentan un alto grado de selectividad para el ADN cuádruplex frente al dúplex; además, solamente unos pocos de estos compuestos han sido investigados exhaustivamente como agentes anti-cancerosos. El compuesto principal de esta familia es la telomestatina, un macrociclo de origen natural (aislado de *Streptomyces anulatus* 3533-SV4) formado por cinco anillos de oxazol, dos anillos de metiloxazol y un anillo de tiazolina. La telomestatina representa un paradigma en términos de interacciones selectivas de los cuádruplex, y muestra unas propiedades inhibitorias de la telomerasa excepcionales *in vitro* (evaluadas por medio de TRAP o un análisis Directo, con una CI_{50} para TRAP = 0,6 nM y una CI_{50} para el Análisis Directo = 58 nM (10). Adicionalmente, la telomestatina también ha sido investigada profundamente por sus efectos celulares y presenta propiedades antiproliferativas y apoptóticas en diversas líneas de células tumorales (11 y 12). La telomestatina altera la integridad del telómero (13) y desencadena una respuesta de lesión del ADN en los telómeros (14). La telomestatina induce la desprotección terminal de POT1 *in vitro* ($CI_{50-POT1}$ = 500 nM) y elimina GFP-POT1 de los telómeros en las células tumorales (15). Dado el duro acceso sintético de la telomestatina (16), se ha informado de que los análogos (17, 18 y 19) presentan interesantes propiedades de interacción con los cuádruplex.

El documento WO 2008/012440 describe derivados oligoheteroarílicos que comprenden al menos un radical piridazina o pirrol adecuados como agentes anticancerosos.

No obstante, ninguno de estos compuestos muestra las propiedades excepcionales de la telomestatina. Adicionalmente, ninguno de estos compuestos, incluyendo la propia telomestatina, ha sido investigado por sus propiedades de fluorescencia. Dada la inestabilidad química, la escasa solubilidad en agua y en particular, la ardua síntesis de la telomestatina, su uso terapéutico a gran escala es cuestionable.

En este contexto, los autores de la presente invención han descubierto que los nuevos derivados poliheteroarílicos no macrocíclicos muestran una selectividad exquisita por el ADN cuádruplex sobre el dúplex y que la asociación de estos derivados con sus dianas de ADN conduce a i) profundas modificaciones de sus propiedades espectroscópicas, ii) desprotección terminal de la proteína POT1 humana (protección del telómero 1) del saliente G telomérico, iii) inhibición de la proliferación celular de las líneas celulares tumorales humanas. La estabilidad y solubilidad en medios fisiológicos de esta nueva familia de compuestos son compatibles con su uso en tratamientos terapéuticos. Por otra parte, los autores de la presente invención han encontrado un proceso eficaz y original para obtener estos compuestos.

Un objeto de la presente invención consiste en proporcionar, como nuevos productos, tales derivados poliheteroarílicos no macrocíclicos.

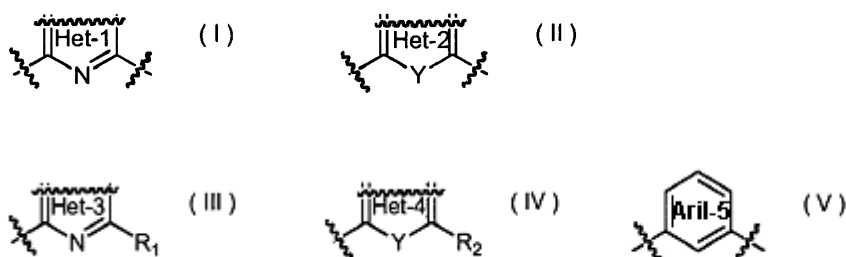
También hace referencia a un método para su síntesis.

De acuerdo con otro objeto, la invención, beneficiándose de las propiedades de la interacción con el cuádruplex de dichos compuestos, hace referencia adicionalmente al uso de dichos derivados como sondas específicas del cuádruplex. En particular, a la vista del elevado rendimiento cuántico de fluorescencia de los compuestos descritos, tales compuestos se podrían utilizar como sondas fluorescentes para la detección y/o purificación de ADN cuádruplex o estructuras de ácido nucleico relacionadas incluyendo, pero no limitadas a, ARN cuádruplex.

En otro objeto más, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen dichos derivados como principios activos y también hace referencia al uso de dichos derivados en la fabricación de fármacos para una amplia gama de trastornos, concretamente para el tratamiento de pacientes que padecen, por ejemplo, cáncer o enfermedades infecciosas tales como la malaria.

Los derivados poliheteroarílicos de la invención son derivados penta-, hexa-, hepta-, octa-, nona- y deca-heteroarílicos (abreviado en adelante como penta- a deca-heteroarílicos) que comprenden

- una combinación del heterociclo 1 (Het-1)_a y/o el heterociclo 2 (Het-2)_b y/o el heterociclo 3 (Het-3)_c y/o el heterociclo 4 (Het-4)_d de fórmulas I, II, III y IV respectivamente,



los N-óxidos, las sales de adición farmacéuticamente aceptables,

- comprendiendo dicha combinación al menos dos radicales heterocíclicos diferentes, y comprendiendo opcionalmente un radical (Aryl-5)_e de fórmula (V)

- siendo a, b y e, números enteros de 0 a 6, siendo c y d números enteros de 0 a 2, siendo la suma de a + b + c + d + e ≤ 10

- Y es O o S;

- Het-1 es una clase de anillo heterocíclico-diilo que contiene nitrógeno seleccionado del grupo que comprende 2,6-piridin-diilo o 2,4-pirimidin-diilo o 3,5-pirazin-diilo o 2,4-(1,3,5-triazin)diilo o 3,5-(1,2,4-triazin)diilo o 2,4-oxazolin-diilo o 2,4-tiazolin-diilo;

- Het-2 es una clase de anillo heterocíclico-diilo de cinco miembros seleccionado del grupo que comprende 2,5-oxazolin-diilo o 2,5-tiazolin-diilo, o 2,5-tiofen-diilo o 2,5-furan-diilo;

- Het-3 y/o Het-4 constituyen las terminaciones de los derivados penta- hexa-, hepta-, octa-, nona- y deca-heteroarílicos mencionados, en donde

- Het-3 es una clase de anillo heterocíclico-ilo que contiene nitrógeno seleccionado entre 2-piridilo o 2-pirimidilo o 4-pirimidilo o 2-pirazilo o 2-(1,3,5)triazilo o 3-(1,2,4)triazilo o 5-(1,2,4)triazilo o 4-oxazolilo o 4-tiazolilo;

- Het-4 es una clase de heterocíclico-ilo de cinco miembros seleccionado entre 2-oxazolilo o 5-oxazolilo o 2-tiazolilo o 5-tiazolilo o 2-tienilo o 2-furanilo;

- R₁ y R₂, se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno; alquilo C₁-C₆; alquil(C₁-C₄)oxi; halo; hidroxil; hidroximetilo; nitro; amino; mono- o di(alquilo C₁-C₄)amino; alquil(C₁-C₄) metilamino; mono- o di(alquil C₁-C₄)amino(alquil C₂-C₄)aminometilo; morfolin-4-il-alquiloxi C₂-C₄; piperazin-1-il-alquiloxi C₂-C₄; 4-alquil(C₁-C₄)piperazin-1-ilo, monocíclico o bicíclicos seleccionado entre fenilo, bencilo, naftilo.

De acuerdo con una realización de la invención, a, b, c y d son números enteros de 0 a 3, e=0, y siendo la suma de a+b+c+d ≤ 10.

De acuerdo con una realización de la invención, se sustituyen uno o varios de los radicales anteriores por

uno, dos o tres sustituyentes, seleccionados cada uno independientemente entre alquilo C₁-C₆; alquil(C₁-C₄)oxi; halo; hidroxilo; nitro; amino; mono- o di(alquilo C₁-C₄)amino; alquil(C₁-C₄)metilamino; morfolin-4-ilalquil(C₂-C₄)oxi; piperazin-1-ilalquil(C₂-C₄)oxi; 4-alquil(C₁-C₄)piperazin-1-ilalquil(C₂-C₄)oxi; anillo monocíclico o bicíclico seleccionado entre fenilo, bencilo, naftilo.

5 La invención hace referencia concretamente a derivados tales como los definidos anteriormente, que comprenden al menos 5, al menos 7, al menos 8, al menos 9 o 10 radicales heterocíclicos.

De acuerdo con otro aspecto, la invención también hace referencia concretamente a derivados tales como los definidos anteriormente, que comprenden adicionalmente uno o varios, por ejemplo dos, tres o cuatro, radicales 1,3-fenilen-diilo.

10 Los derivados particularmente preferidos de la invención tienen una de las siguientes estructuras:

- (Het-4 sustituido con R2)-(Het-1)-(Het-4 sustituido con R2)

- (Het-3 sustituido con R1)-(Het-2)-(Het-3 sustituido con R1)

- (Het-3 sustituido con R1)-(Het-2)-(Het-1)-(Het-2)-(Het-3 sustituido con R1)

- (Het-3 sustituido con R1)-(Het-2)-1,3-fenilen-diilo-(Het-2)-((Het-3 sustituido con R1)

15 - (1,3-fenilen-diilo- sustituido con R1 o R2)-(Het-2)-(Het-1)-(Het-2)-(1,3-fenilen-diilo- sustituido con R1 o R2)

- (Het-3 sustituido con R1)-(Het-2)-(Het-1) (Het-2)-((Het-3 sustituido con R1)

- (Het-3 sustituido con R1) -(Het-2)-(Het-1)-(Het-1)-(Het-2)-((Het-3 sustituido con R1).

En los derivados preferidos,

R1 y R2 son grupos oxazolin- o piridin-diilo, y/o

20 Het-2 es un grupo oxazolin-diilo y/o

Het-1 es un grupo 2,6 piridin-diilo, 2,6 pirimidin-diilo, 2,6 pirazin-diilo, o 1,3-fenilen-diilo.

En un grupo ventajoso, en vista de las propiedades de interacción con el cuádruplex G de los derivados, Het-1 está conectado a dos Het-2.

25 En los derivados preferidos de dicho grupo, Het-1 es un piridin-diilo y Het-4 es un oxazolilo, sustituido con un piridilo o un piridil-oxazolilo.

En un segundo grupo ventajoso, Het-2 está conectado a dos Het-1.

En los derivados preferidos, Het-2 es un oxazolilo y Het-1 es un piridil-oxazolilo.

Los compuestos preferidos específicos de acuerdo con la invención son aquellos enumerados en la sección Ejemplos de más abajo, especialmente los compuestos 3 y 4.

30 Las sales de adición farmacéuticamente aceptables de los derivados definidos anteriormente incluyen sales de adición de ácido y base (incluyendo las disales) de los mismos.

35 Las sales de adición de ácido adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales acetato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, edisilato, esilato, formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzato, hidrocloreto/cloruro, hidrobromuro/bromuro, hidroyoduro/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, sacarato, estearato, succinato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato.

40 Las sales de bases adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y cinc.

Tales sales farmacéuticamente aceptables de un derivado definido anteriormente se pueden preparar fácilmente mezclando entre sí soluciones de dicho derivado y el ácido o base deseados, según sea apropiado. La sal puede precipitar de la disolución y recogerse por filtración o se puede recuperar mediante evaporación del disolvente. El grado de ionización de la sal puede variar entre completamente ionizada y casi no ionizada.

45 La presente invención incluye también derivados marcados isotópicamente como los definidos anteriormente, preferiblemente derivados marcados isotópicamente aceptables, en donde uno o más átomos son

sustituídos por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o un número másico diferentes de la masa atómica o el número másico encontrados normalmente en la naturaleza.

5 Los ejemplos de los isótopos adecuados para la inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ^2H y ^3H , carbono, tal como ^{11}C , ^{13}C y ^{14}C , cloro, tal como ^{36}Cl , flúor, tal como ^{18}F , yodo, tal como ^{123}I y ^{125}I , nitrógeno, tal como ^{13}N y ^{15}N , oxígeno, tal como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , fósforo, tal como ^{32}P , y azufre, tal como ^{35}S .

10 Ciertos derivados marcados isotópicamente de acuerdo con la invención, por ejemplo, aquellos que incorporan un isótopo radiactivo, son útiles en estudios de distribución tisular de fármacos y/o sustratos. Los isótopos radiactivos de tritio, esto es, ^3H , y carbono 14, esto es, ^{14}C , son particularmente útiles para este fin en vista de su facilidad de incorporación y rápidos medios de detección.

La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, esto es, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, aumento de la vida media o reducción de los requerimientos de dosificación, y por consiguiente pueden ser preferidos en algunas circunstancias.

15 La sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , pueden ser útiles en estudios de Tomografía de Emisión de Positrones (PET) para examinar la ocupación de receptores de sustratos.

20 Como se muestra en los Ejemplos más adelante, los derivados de la invención se unen específicamente a y estabilizan el ADN cuádruplex y por lo tanto son de gran interés como sondas específicas de cuádruplex. La capacidad de dichos derivados para unirse al ADN cuádruplex así como su selectividad se pueden medir utilizando análisis conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo los análisis descritos en la sección Ejemplos de más abajo.

También tienen gran valor para el tratamiento de diferentes enfermedades.

La invención también hace referencia a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de al menos un derivado tal como los definidos anteriormente combinado con un portador farmacéuticamente aceptable.

25 Según se utiliza en la presente memoria, se entiende que una "cantidad terapéuticamente eficaz" o una "cantidad eficaz" es una cantidad de agente terapéutico tal como un derivado definido anteriormente administrada a un paciente que es suficiente para constituir un tratamiento de una enfermedad.

30 Según se utiliza en la presente memoria, el término "tratamiento" de una enfermedad hace referencia a cualquier acto destinado a (1) disminuir o detener el progreso, agravamiento, re-aparición, diseminación o deterioro de los síntomas del estado de enfermedad o afección al cual se aplica semejante término; (2) aliviar u ocasionar mejoras de los síntomas del estado de enfermedad o afección al cual se aplica el término; y/o (3) revertir o curar el estado de enfermedad o afección al cual se aplica el término.

35 Los derivados de la invención destinados a uso farmacéutico pueden ser administrados, en efecto, solos o combinados con uno o más derivados de la invención o combinados con uno o más fármacos diferentes (o cualquier combinación de los mismos), especialmente fármacos anti-cancerosos o fármacos anti-infecciosos. Generalmente, se administrarán en forma de una formulación asociados con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. El término "portador" se utiliza en la presente memoria para describir cualquier ingrediente distinto del derivado o los derivados de la invención. La elección del portador dependerá en gran medida de factores tales como el modo concreto de administración, el efecto del portador sobre la solubilidad y la estabilidad, y la naturaleza de la forma de dosificación.

40 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la liberación de los derivados anteriormente definidos y los métodos para su preparación serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica. Tales composiciones y métodos para su preparación se pueden encontrar, por ejemplo, en 'Remington's Pharmaceutical Sciences', 19ª Edición (Mack Publishing Company, 1995).

45 La composición farmacéutica puede, por ejemplo, estar en una forma adecuada para la administración oral en forma de comprimido, cápsula, píldora, polvo, formulaciones de liberación sostenida, disolución, suspensión; para la administración parenteral en forma de disolución, suspensión o emulsión; para la administración tópica en forma de pomada o crema; o para la administración rectal en forma de supositorio. La composición farmacéutica puede estar en formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración individual de dosificaciones precisas.

50 Los portadores farmacéuticos adecuados incluyen diluyentes o cargas inertes, agua y diferentes disolventes orgánicos. Las composiciones farmacéuticas pueden, si se desea, contener ingredientes adicionales tales como aromas, aglutinantes, excipientes y similares. De este modo, para la administración oral, se pueden emplear comprimidos que contienen diversos excipientes, tales como ácido cítrico, junto con diferentes disgregantes tales como almidón, ácido algínico y ciertos silicatos complejos y con agentes aglutinantes tales como sacarosa, gelatina y acacia. Adicionalmente, los agentes lubricantes tales como esterato de magnesio, laurilsulfato de sodio y talco son a

55

menudo útiles para formar comprimidos. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear en cápsulas de gelatina cargadas blandas y duras. Los materiales preferidos para ello, por lo tanto, incluyen lactosa o galactosa y polietilenglicoles de elevado peso molecular. Cuando se desean suspensiones acuosas o elixires para la administración oral, se puede combinar el derivado definido anteriormente con diferentes agentes edulcorantes o aromatizantes, sustancias colorantes o tintes y, si se desea, agentes emulsionantes o agentes suspensoros, junto con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol, o combinaciones de los mismos.

Según se utiliza en la presente memoria, "administración parenteral" de una composición farmacéutica incluye cualquier ruta de administración caracterizada por la ruptura física de un tejido de un sujeto y la administración de la composición farmacéutica a través de la brecha del tejido. La administración parenteral incluye de ese modo, pero no está limitada a, la administración de una composición farmacéutica mediante inyección de la composición, mediante aplicación de la composición a través de una incisión quirúrgica, mediante aplicación de la composición a través de una herida no quirúrgica que penetra en el tejido, y similares. En particular, se contempla que la administración parenteral incluya, pero no esté limitada a, inyección subcutánea, intravenosa, intradérmica, intraperitoneal, intramuscular, intraesternal, y técnicas de infusión dialítica del riñón.

Las formulaciones de una composición farmacéutica adecuada para la administración parenteral comprenden el ingrediente activo combinado con un portador farmacéuticamente aceptable, tal como agua estéril o solución salina isotónica estéril. Tales formulaciones se pueden preparar, empaquetar, o vender en una forma adecuada para la administración en embolada o para la administración continua. Las formulaciones para la administración parenteral incluyen, pero no están limitadas a, suspensiones, soluciones, emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, pastas, y formulaciones biodegradables o de liberación sostenida implantables como se comenta más abajo. Tales formulaciones pueden comprender adicionalmente uno o más ingredientes adicionales que incluyen, pero no se limitan a, agentes suspensoros, estabilizantes o dispersantes. En una realización de una formulación para la administración parenteral, el ingrediente activo se proporciona en forma seca (esto es, en polvo o gránulos) para su reconstitución con un vehículo adecuado (p. ej. agua libre de pirógenos estéril) antes de la administración parenteral de la composición reconstituida.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar con portadores que protegen el compuesto frente a la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes, parches transdérmicos, y sistemas de liberación microencapsulados. Se pueden utilizar polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como etileno acetato de vinilo, polianhídridos, poli(ácido glicólico), colágeno, poliortoésteres, y poli(ácido láctico).

Para los usos terapéuticos, una cantidad diaria eficaz de principio activo en las composiciones será, en general, de 0,01 mg/kg a 50 mg/kg de peso corporal, más preferiblemente de 0,1 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Ésta variará, por supuesto, con el derivado empleado, el modo de administración, el tratamiento deseado, el trastorno indicado así como con los datos fisiológicos del paciente (p. ej. edad, tamaño, y peso). La dosis diaria total se puede administrar en dosis únicas o divididas. La determinación de las dosificaciones apropiadas y de los regímenes para la administración de los agentes terapéuticos es bien conocida en la técnica relevante y se entiende que será conocida por los expertos en la técnica.

Los derivados definidos anteriormente y las composiciones farmacéuticas de los mismos son particularmente útiles para tratar el cáncer y enfermedades infecciosas tales como la malaria.

El término "cáncer", según se utiliza en la presente memoria, hace referencia a la presencia de células que poseen características típicas de células que ocasionan cáncer, tales como la proliferación incontrolada, la inmortalidad, el potencial metastásico, y ciertos rasgos morfológicos característicos. Este término hace referencia a cualquier tipo de malignidad (primaria o metástasis).

El término "enfermedad infecciosa", según se utiliza en la presente memoria, hace referencia a una enfermedad resultante de la infección de un mamífero (humano o animal) por microorganismos tales como bacterias, parásitos, levadura, hongos. Las infecciones por virus también están incluidas.

El uso de los derivados anteriores y las composiciones farmacéuticas de los mismos para elaborar un fármaco para el tratamiento del cáncer o de enfermedades infecciosas tales como la malaria entra dentro del alcance de la invención.

La invención también abarca un método para elaborar los derivados definidos anteriormente.

Dicho método comprende

- hacer reaccionar X1-A-X2
- con B-X3 o con X4-B-X3

en donde

- A es una cadena de di- o tri- o tetra-heteroarilo-1,4 y B es (mono- o di- o tri- o tetra-heteroarilo-1,4)-, comprendiendo opcionalmente los radicales heteroarilo uno, dos, tres o cuatro radicales Arilo-5 o radicales terminales Arilo-5.

Siendo heteroarilo-1,4 una combinación de Het-1 y/o Het-2 y/o Het-3 y/o Het-4 que se definen como antes,

- 5
- X1 y X2, idénticos o diferentes, representan hidrógeno o halógeno o un grupo triflato,
 - X3 representa halógeno o un grupo halogenuro de cinc o trialkilestaño o boronato
 - X4 representa un grupo carboxaldehído,

en condiciones que proporcionan los derivados poliheteroarílicos deseados.

10 Otras características y ventajas de la invención se proporcionan en los siguientes Ejemplos, que hacen referencia a las Fig. 1 a Fig. 16, en donde

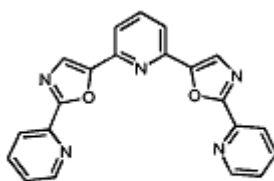
- Las Fig. 1A - Fig. 1D representan espectros de absorción de un derivado de acuerdo con la invención en diferentes condiciones;
- La Fig. 2, diversos resúmenes de titulaciones;
- Las Fig. 3A a Fig. 3C, resultados de análisis de fusión FRET con oligonucleótidos que imitan las secuencias teloméricas humanas o de plasmodium y los compañeros de FRET;
- 15 - Las Fig. 4A-Fig. 4b y Fig. 5, resultados de fluorescencia de la fusión de cuádruplex G con o sin un derivado de la invención;
- La Fig. 5, resultados de fluorescencia de la fusión de un cuádruplex G solo o en presencia de un derivado de la invención, sin o con exceso de competidores de ADN cuádruplex;
- 20 - La Fig. 6, el resumen de los diversos experimentos de fusión mediante FRET;
- Las Fig. 7A y Fig. 7B, resultados de la fusión con fluorescencia con un ADN cuádruplex con la adición de un derivado de la invención;
- La Fig. 8, los resultados de la titulación de la fluorescencia cuando se utiliza un cuádruplex o se utiliza un ADN dúplex corto con la adición de un derivado de la invención;
- 25 - La Fig. 9, los resultados de la titulación de fluorescencia cuando se utilizan diversas estructuras de ADN cuádruplex con la adición de un derivado de la invención;
- La Fig. 10, una representación gráfica del resumen de las diversas titulaciones de fluorescencia;
- Las Fig. 11A y Fig. 11B y Fig. 12, resultados del dicroísmo circular de ADN cuádruplex con la adición de un derivado de la invención;
- 30 - La Fig. 13, resultados referentes a la inducción de la estructura de cuádruplex;
- La Fig. 14, resultados referentes a la inhibición de la unión de POT1 a una secuencia telomérica *in vitro* por un derivado de acuerdo con la invención;
- La Fig. 15, resultados referentes a la inhibición de la proliferación celular por un derivado de acuerdo con la invención, y
- 35 - La Fig. 16, resultados referentes a la estabilización de ADN cuádruplex y la selectividad para el ADN cuádruplex sobre el dúplex para los derivados la invención.

I - Síntesis de derivados poliheteroarílicos

Se pretende que los siguientes ejemplos ilustren la presente invención. Los compuestos también se pueden obtener mediante otros procesos conocidos por los expertos en la técnica.

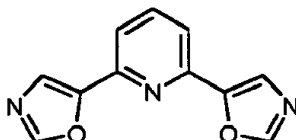
- 40 El 2,6-piridin-dicarboxaldehído, el 6-bromopiridin-2-carbaldehído, el isocianuro de *p*-toluenesulfonilmetilo (TosMIC), el bromuro de 2-piridilcinc, el 1,3-benceno-dicarboxaldehído, el 6-bromopiridin-2-carboxaldehído, el 3-bromobenzaldehído y el 5-bromo-2-furaldehído utilizados como sustancias de partida, son productos asequibles comercialmente.

1. : Ejemplo 1: 2,6-Bis[2-(piridin-2-il)oxazol-5-il]piridina (Compuesto 1)



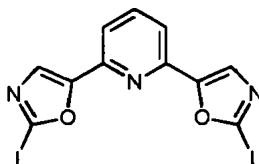
Compuesto 1

1.1.: 2,6-Bis(oxazol-5-il)piridina (intermedio 1)



5 Se calentaron 2,6-piridin-dicarboxaldehído (4,0 g; 29,2 mmoles), TosMIC (11,4 g; 58,3 mmoles) y carbonato de potasio (16,3 g; 117,8 mmoles) en 100 mL de metanol a reflujo durante 3 horas. El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se vertió en solución de salmuera y se extrajo con diclorometano (4x 150 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea sobre una columna de gel de sílice con diclorometano-etanol (95-5) como eluyente para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (5,6 g, 90%), p.f. = 190-191°C ; RMN H^1 (300 MHz, $CDCl_3$) 7,56 (d; 2H; J= 8,0); 7,74 (s; 2H); 7,80 (t; 1H; J= 8,0 Hz); 7,96 (s; 2H); RMN C_{13} (75 MHz, $CDCl_3$) 118,7, 125,7, 138,0, 147,4, 150,8, 151,0; EM m/z 214,1 (M+1); Anal. calculado para $C_{11}H_7N_3O_2$: C, 91,97; H, 3,31; N, 19,71. encontrado: C, 61,51, H, 3,43, 19,48.

1.2.: 2,6-Bis-(2-yodooxazol-5-il)piridina (intermedio 2)



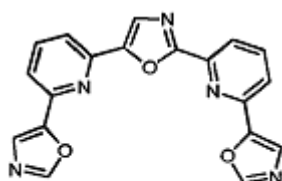
15 En atmósfera de argón, se disolvieron el intermedio 1 (0,1 g; 0,5 mmoles) y TMEDA (0,2 mL; 1,0 mmoles) en 5 mL de THF anhidro y se enfriaron a -78°C. Se añadió una disolución de LiHMDS 1M en THF (0,5 mL; 0,5 mmoles) gota a gota y se agitó durante 30 minutos a -78°C y una hora a -40°C. La mezcla se enfrió de nuevo a -8°C y se añadió 1,2-diiodoetano (0,5 g; 1,9 mmoles). Después de agitar durante la noche a la temperatura ambiente la mezcla se vertió en una disolución de tiosulfato de sodio y se extrajo con acetato de etilo (3x10 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO_2 , diclorometano-etanol, 95-5) para dar el intermedio 2 en forma de un sólido de color beige (117 mg, 50%), RMN H^1 (300 MHz, $CDCl_3$) 7,58 (d; 2H; J= 8 Hz); 7,69 (s; 2H); 7,85 (t; 1H; J= 8 Hz); RMN C (75 MHz, $CDCl_3$) 119,5, 129,7, 138,7, 147,0, 157,2, 151,5; EM m/z 465,8 (M+1), 487,8 (M+23).

1.3.: 2,6-bis[2-(piridin-2-il)oxazol-5-il]piridina (Compuesto 1)

25 Método 1: Una mezcla del intermedio 2 (65 mg; 0,14 mmoles), bromuro de 2-piridilcinc (1,2 mL; 0,60 mmoles) y $Pd(PPh_3)_4$ (12 mg; 0,01 mmoles) se calentó a reflujo en 2 mL de THF anhidro durante 4 horas. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x10 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO_2 , diclorometano-etanol, 95-5) para dar el compuesto 1 esperado en forma de un sólido de color beige (13 mg, 25%), p.f. = 242-245°C; RMN H^1 (300 MHz, $CDCl_3$) 7,40 (m; 2H); 7,83-7,88 (m; 5H); 7,97 (s; 2H); 8,23 (d; 2H; J= 7,9 Hz); 8,77 (d; 2H; J= 4,5 Hz); RMN C_{13} (75 MHz, $CDCl_3$) 119,7, 123,3, 125,6, 128,6, 137,8, 138,5, 146,6, 147,9, 150,9, 152,3, 161,5; EM m/z 368,0 (M+1), 390,0 (M+23).

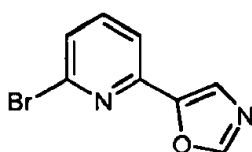
35 Método 2: Una mezcla del intermedio 1 (0,1 g; 0,5 mmoles), 2-bromopiridina (91 μ L; 0,9 mmoles), diacetato de paladio (11 mg; 0,05 mmoles; 10% en moles), $PCy_3.HBF_4$ (35 mg; 0,1 mmoles; 20% en moles), yoduro de cobre (I) (0,18 g; 0,9 mmoles), carbonato de cesio (0,61 mg; 1,88 mmoles) y 1,3 mL de tolueno anhidro se sometió a condiciones de irradiación con microondas (130°C, 150 W) durante 4 horas. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO_2 , diclorometano-etanol, 95-5) para dar el compuesto 1 (8 mg, 33%) que es idéntico al descrito en el método 1 anterior.

2. Ejemplo 2: 2,5-Bis-[6-(oxazol-5-il)]piridin-2-iloxazol (Compuesto 2)



Compuesto 2

2.1: 5-(2-Bromopiridin-2-il)oxazol (intermedio 3)

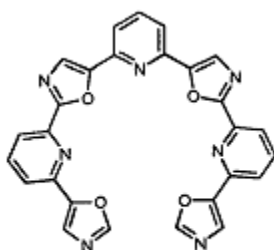


5 Se calentaron 6-bromopiridin-2-carbaldehído (4,0 g; 21,5 mmoles), TosMIC (4,2 g; 21,5 mmoles) y carbonato de potasio (6,0 g; 43,4 mmoles) a reflujo durante 3 horas en 75 mL de metanol. El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se vertió en solución de salmuera y se extrajo con diclorometano (4x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO₂, diclorometano-etanol, 95-5) para dar el intermedio 3 en forma de un sólido de color amarillo (2,9 g, 60%); p.f. = 90-91°C; RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) 7,38 (dd; 1H; J= 3,5 y 5,3 13 Hz); 7,57 (m; 2H); 7,73 (s; 1H); 7,97 (s; 1H); RMN C (75 MHz, CDCl₃) 118,1, 126,4, 127,6, 139,3, 142,4, 148,0, 151,6; EM m/z 225,0 y 227,1 (M+1).

2.2: 2,5-Bis-[6-(oxazol-5-il)]piridin-2-iloxazol (Compuesto 2)

15 Una mezcla del intermedio 1 (0,10 g; 0,5 mmoles), el intermedio 3 (0,10 g; 0,5 mmoles), diacetato de paladio (11 mg; 0,05 mmoles; 10% en moles), PCy₃.HBF₄ (35 mg; 0,09 mmoles; 20% en moles), yoduro de cobre (I) (0,1 g; 0,5 mmoles), carbonato de cesio (0,3 mg; 0,9 mmoles) y 1,3 mL de tolueno anhidro se sometió a condiciones de irradiación con microondas (130°C, 150 W) durante 6 horas. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO₂, diclorometano-etanol, 95-5) para dar el compuesto 2 esperado en forma de un sólido de color beige (60 mg, 36%); RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) 7,70 (d; 2H; J= 7,5 Hz); 7,80 (d; 1H; J= 7,5Hz); 7,85 (d; 2H; J=7,5Hz); 7,90 (s; 1H); 7,93 (d; 2H; J= 5 Hz); 8,00 (s; 1H); 8,04 (d; 1H; J= 5 Hz); 8,20 (d; 1H; J= 7,5 Hz); EM m/z 358,1 (M+1).

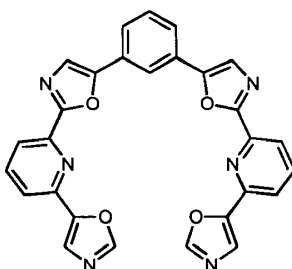
3. Ejemplo 3: 2,6-bis[2-[6-(oxazol-5-il)piridin-2-il]oxazol-5-il]piridina (Compuesto 3).



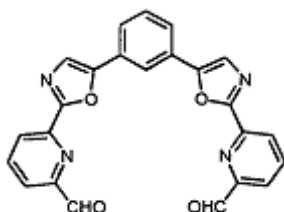
Compuesto 3

25 Una mezcla del intermedio 1 (0,10 g; 0,5 mmoles), el intermedio 3 (0,21 g; 0,9 mmoles), diacetato de paladio (11 mg; 0,05 mmoles; 10% en moles), PCy₃.HBF₄ (35 mg; 0,09 mmoles; 20% en moles), yoduro de cobre (I) (0,18 g; 0,9 mmoles), carbonato de cesio (0,61 mg; 1,9 mmoles) y 1,3 mL de tolueno anhidro se sometió a condiciones de irradiación con microondas (130°C, 150 W) durante 6 horas. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO₂, diclorometano-etanol, 95-5) para dar el compuesto 3 esperado en forma de un sólido de color beige (52 mg, 22%) p. f. >250°C; RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) 7,65 (m; 1H); 7,75 (m; 2H); 7,90-8,05 (m; 9H); 8,10 (s; 1H); 8,20 (m; 2H); SM m/z 524,2 (M+23).

4. Ejemplo 4: 1,3-Bis(2-(6-(oxazol-5-il)piridin-2-il)oxazol-5-il)benceno (Compuesto 4).

**Compuesto 4**

4.1: 6,6'-(5,5'-(1,3-Fenilen)bis(oxazol-5,2-diil))dipiridin-2-carbaldehído (intermedio 4)

**Intermedio 4**

5

Una mezcla del 1,3-di(oxazol-5-il)benzeno, obtenida como describen Sambavisarao y Vrajesh (Synthesis, 2007, 3653), (0,21 g; 1 mmoles), 6-bromopiridin-2-carboxaldehído (0,24 g; 1,3 mmoles; diacetato de paladio (64 mg; 0,28 mmoles, 28% en moles), $\text{PCy}_3 \cdot \text{HBF}_4$ (62 mg; 0,17 mmoles; 17% en moles), yoduro de cobre (I) (0,43 g; 2,3 mmoles), carbonato de cesio (1,4 g; 4,3 mmoles) y 4 mL de dioxano anhidro se calentó en un tubo sellado 130°C durante 2 horas. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO_2 , diclorometano-etanol, 95-5) para dar el intermedio 4 en forma de un sólido de color beige (83 mg, 30%); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) 10,27 (s; 1H); 8,45-8,40 (m; 1H); 8,20 (s; 0,5H); 8,10-8,05 (m; 2H); 7,83 (dd; 1H; $J = 7,8$ y 1,6 Hz); 7,71 (s; 1H); 7,61 (t; 0,5H; $J = 7,93$ Hz); EM m/z 423,1 (M+1).

10

4.2: 1,3-Bis(2-(6-(oxazol-5-il)piridin-2-il)oxazol-5-il)benzeno (Compuesto 4).

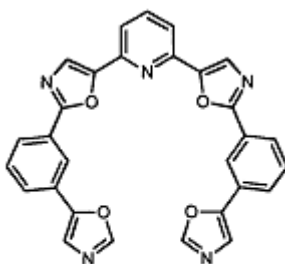
15

Una mezcla del dicarboxaldehído intermedio 4 (75 mg; 0,18 mmoles), TosMIC (86 mg; 0,44 mmoles) y carbonato de potasio (126 mg; 0,9 mmoles) en 8 mL de etanol absoluto se calentó a reflujo durante 2 horas. El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se vertió en solución de salmuera y se extrajo con diclorometano (3x50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea sobre una columna de gel de sílice con diclorometano-etanol (95-5) como eluyente para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (55 mg, 62%), p.f. > 250°C ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) 8,22 (s ancho; 0,5H); 8,17 (d; 1H; $J = 7,8$ Hz); 8,03 (s; 1H); 7,99 (t; 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,93 (s; 1H); 7,85-7,76 (m; 2H); 7,68 (s; 1H); 7,64-7,57 (m; 0,5H); SM m/z 501,1 (M+1); Anal. calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_4 \cdot 0,75 \text{H}_2\text{O}$: C, 65,43; H, 3,40; N, 16,36, encontrado: C, 65,92, H, 3,37, 15,92.

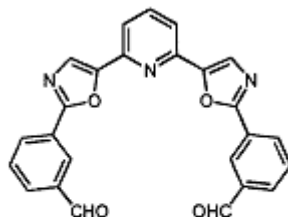
20

5. Ejemplo 5: 2,6-Bis(2-(3-(oxazol-5-il)fenil)oxazol-5-il)piridina (Compuesto 5).

25

**Compuesto 5**

5.1: 3,3'-(5,5'-(Piridin-2,6-diil)bis(oxazol-5,2-diil))dibenzaldehído (intermedio 5)

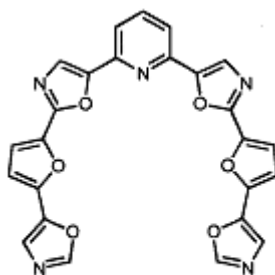
**Intermedio 5**

Una mezcla del intermedio 1 (0,18 g; 0,84 mmoles), 3-bromobenzaldehído (0,50 g; 2,7 mmoles), diacetato de paladio (80 mg; 0,36 mmoles; 43% en moles), PCy₃.HBF₄ (68 mg; 0,18 mmoles; 20% en moles), yoduro de cobre (I) (0,37 g; 1,9 mmoles), carbonato de cesio (1,2 g; 3,7 mmoles) y 3,5 mL de dioxano anhidro se calentó en un tubo sellado a 130°C durante 18 horas. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO₂, diclorometano-etanol, 98-2) para dar el intermedio 5 en forma de un sólido de color amarillo (50 mg, 14%); RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) 10,15 (s; 1H); 8,66 (s; 1H); 8,45 (d; 1H; J= 7,7 Hz); 8,04 (d; 1H; J= 7,6 Hz); 7,98-7,92 (m; 1,5H); 7,76 (d; 1H; J= 7,9 Hz); 7,72 (t; 1H; J= 7,7 Hz); EM m/z 444,0 (M+Na); Anal. calculado para C₂₅H₁₅N₃O₄· 0,25 H₂O: C, 70,50; H, 3,64; N, 9,87, encontrado: C, 70,11, H, 3,51, 9,75.

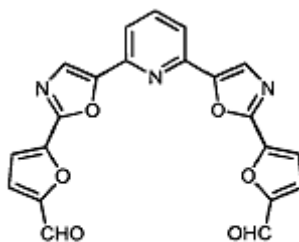
5.2: 2,6-Bis(2-(3-(oxazol-5-il)fenil)oxazol-5-il)piridina (Compuesto 5).

Una mezcla del dicarboxaldehído intermedio 5 (50 mg; 0,12 mmoles), TosMIC (50 mg; 0,25 mmoles) y carbonato de potasio (70 mg; 0,5 mmoles) en 6 mL de etanol absoluto se calentó a reflujo durante 2 horas. El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se vertió en solución de salmuera y se extrajo con diclorometano (3x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea sobre una columna de gel de sílice con diclorometano-etanol (94-6) como eluyente para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido (40 mg, 67%), p.f. 254-256°C; RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) 8,45 (s; 1H); 8,14 (d; 1H; J= 7,9 Hz); 7,99 (s; 1H); 7,96-7,88 (m; 1,5H); 7,79 (d; 1H; J= 7,9 Hz); 7,74 (d; 1H; J= 7,9 Hz); 7,60 (t; 1H; J= 7,9 Hz); 7,51 (s; 1H); EM m/z 500,2 (M+1); Anal. calculado para C₂₉H₁₇N₅O₄· H₂O: C, 67,31; H, 3,67; N, 13,53, encontrado: C, 67,53, H, 3,82, 13,29.

6. Ejemplo 6: 2,6-Bis(2-(5-(oxazol-5-il)furan-2-il)oxazol-5-il)piridina (Compuesto 6).

**Compuesto 6**

6.1: 5,5'-(5,5'-(Piridin-2,6-diil)bis(oxazol-5,2-diil))difuran-2-carbaldehído (intermedio 6).

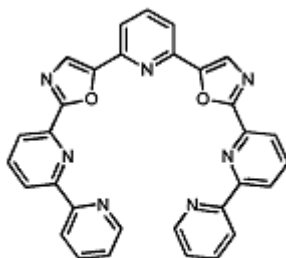
**Intermedio 6**

Una mezcla del intermedio 1 (0,21 g; 1 mmoles), 5-bromo-2-furaldehído (0,21 g; 1,2 mmoles), diacetato de paladio (83 mg; 0,37 mmoles; 37% en moles), PCy₃.HBF₄ (72 mg; 0,2 mmoles; 20% en moles), yoduro de cobre (I) (0,46 g; 2,4 mmoles), carbonato de cesio (1,4 g; 4,3 mmoles) y 4 mL de dioxano anhidro se calentó en un tubo sellado 130°C durante 2 horas. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO₂, diclorometano-etanol, 98-2) para dar el intermedio 6 en forma de un sólido de color amarillo (62 mg, 26%); RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) 9,83 (s; 1H); 7,97 (s; 1H); 7,95-7,90 (m; 0,5H); 7,79 (d; 1H; J= 8,2 Hz); 7,39 (d; 1H; J= 3,8 Hz); 7,31 (d; 1H; J= 3,8 Hz); EM m/z 402,1 (M+1); Anal. calculado para C₂₁H₁₁N₃O₆· 1,5 H₂O: C, 58,87; H, 3,27; N, 9,81, encontrado: C, 58,77, H, 2,85, 9,83.

6.2: 2,6-Bis(2-(5-(oxazol-5-il)furan-2-il)oxazol-5-il)piridina (Compuesto 6).

10 Una mezcla del dicarboxaldehído intermedio 6 (30 mg; 0,07 mmoles), TosMIC (43 mg; 0,22 mmoles) y carbonato de potasio (63 mg; 0,45 mmoles) en 3 mL de etanol absoluto se calentó a reflujo durante 2 horas. El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se vertió en solución de salmuera y se extrajo con diclorometano (3x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea sobre una columna de gel de sílice con diclorometano-etanol (96-4) como eluyente para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido (13 mg, 36%), p.f.> 250°C; RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) 7,95-7,91 (m; 2,5H); 7,71 (d; 1H; J= 8,1 Hz); 7,53 (s; 1H); 7,34-7,29 (m; 2H); EM m/z 480,1 (M+1).

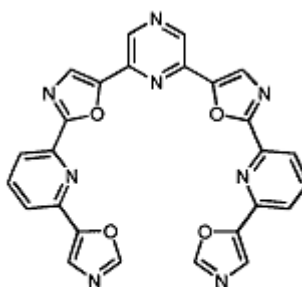
7.: 2,6-Bis(2-(2,2'-bipiridin-6-il)oxazol-5-il)piridina (Compuesto 7).



Compuesto 7

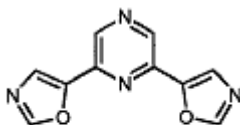
20 Se aplica el protocolo descrito anteriormente para la síntesis del compuesto 3, partiendo del intermedio 1 y utilizando 6-bromo-2,2'-bipiridina (U. Lehmann y A.D. Schlüter, Eur. J. Org. Chem. 2000, 3483-3487) en lugar del intermedio 3, para dar el compuesto 7 del título.

8. 2,6-Bis(2-(6-(oxazol-5-il)piridin-2-il)oxazol-5-il)pirazina (Compuesto 8).



Compuesto 8

25 8.1: 2,6-Di(oxazol-5-il)pirazina (intermedio 7).

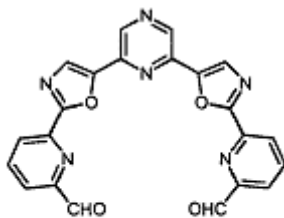


Intermedio 7

Se aplica el protocolo descrito anteriormente para la síntesis del intermedio 1, partiendo de pirazin-2,6-

dicarbaldehído (H. Schumann y H.-K. Luo, Zeitschrift fuer Naturforschung, B: Chemical Sciences, 2005, 60(1), 22-24) en lugar del 2,6-piridindicarboxaldehído, para dar el intermedio 7 del título.

8.2: 6,6'-(5,5'-(Pirazin-2,6-diil)bis(oxazol-5,2-diil))dipiridin-2-carbaldehído (intermedio 8).



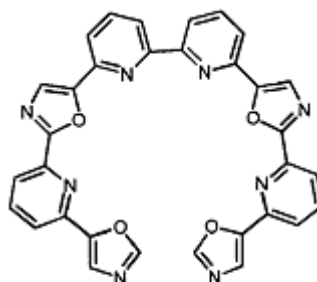
Intermedio 8

5 Se aplica el protocolo descrito anteriormente para la síntesis del intermedio 5, partiendo del intermedio 7 y 6-bromopiridin-2-carbaldehído en lugar del intermedio 1 y 3-bromobenzaldehído, para dar el intermedio 8 del título.

8.3: 2,6-Bis(2-(6-(oxazol-5-il)piridin-2-il)oxazol-5-il)pirazina (Compuesto 8).

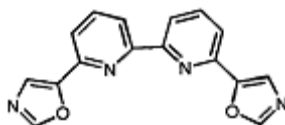
Se aplica el protocolo descrito anteriormente para la síntesis del compuesto 5, partiendo del intermedio 8 en lugar del intermedio 5, para dar el compuesto 8 del título.

10 9.: 6,6'-Bis(2-(6-(oxazol-5-il)piridin-2-il)oxazol-5-il)-2,2'-bipiridina (Compuesto 9).



Compuesto 9

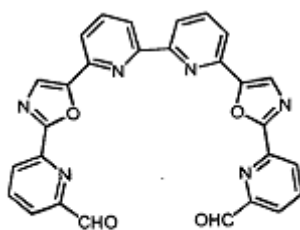
9.1: 6,6'-Di(oxazol-5-il)-2,2'-bipiridina (intermedio 10).



Intermedio 10

15 Se aplica el protocolo descrito anteriormente para la síntesis del intermedio 1, partiendo de 2,2'-bipiridin-6,6'-dicarbaldehído (G. R. Newkome y H.-W. Lee; J. Am. Chem. Soc. 1983, 105(18), 5956-5957) en lugar del 2,6-piridin-dicarboxaldehído, para dar el intermedio 10 del título.

9.2: 6,6'-(5,5'-(2,2'-Bipiridin-6,6'-diil)bis(oxazol-5,2-diil))dipiridin-2-carbaldehído (intermedio 11).

**Intermedio 11**

Se aplica el protocolo descrito anteriormente para la síntesis del intermedio 5, partiendo de intermedio 10 y 6-bromopiridin-2-carbaldehído en lugar del intermedio 1 y 3-bromobenzaldehído, para dar el intermedio 11 del título.

9.3: 6,6'-Bis(2-(6-(oxazol-5-il)piridin-2-il)oxazol-5-il)-2,2'-bipiridina (Compuesto 9).

5 Se aplica el protocolo descrito anteriormente para la síntesis del compuesto 5, partiendo del intermedio 11 en lugar del intermedio 5, para dar el compuesto 9 del título.

II-Métodos y datos biofísicos:

Estudio II-1: Espectroscopía UV-vis para investigar las propiedades de solubilidad

a) Titulaciones UV-vis:

10 El estudio de las propiedades UV-vis de los compuestos poliheteroaromáticos basados en piridina detallados en este estudio permiten la determinación de su solubilidad en diversas condiciones (DMSO, H₂O y tampones de cacodilato (cacodilato de sodio 10 mM + NaCl 100 mM (para Caco.Na) o KCl (para Caco.K)): el método más simple para esto consiste en medir el espectro de absorción del compuesto 3 a diferentes concentraciones (de 0 a 32 μM); la solubilidad del compuesto 3 se evalúa de este modo a través del informe de su absorbancia a una longitud de onda dada (en la presente memoria 338 nm (A₃₃₈)) como una función de la concentración del compuesto 3 y aplicando la ley de Beer-Lambert. Los resultados se proporcionan en la Fig. 1.

b) Resumen

Las diferentes titulaciones se resumen en la Fig. 2.

Estos datos indican que el compuesto 3:

- 20 - es soluble en todos los sistemas disolventes utilizados en la presente memoria; (DMSO, H₂O y tampones de cacodilato acuosos (tanto ricos en Na⁺ como en K⁺);
- no se auto-agrega en el intervalo de concentración de 0 a 32 μM, en todos los sistemas disolventes utilizados en la presente memoria.

Estudio II-2: Estabilización de ADN cuádruplex y selectividad de ADN cuádruplex sobre dúplex

25 La estabilización, y por lo tanto la interacción, de los compuestos con estructura de cuádruplex se controla por medio de análisis de fusión mediante FRET, en una versión que también permite la determinación de la selectividad del ADN cuádruplex sobre el dúplex así como la selectividad intra-cuádruplex (17).

30 El análisis FRET se lleva a cabo con oligonucleótidos que imitan las secuencias teloméricas humanas o de plasmidium, y equipados con compañeros de FRET en cada uno de los extremos: F21T (FAM-G₃[T₂AG₃]₃-Tamra,) FPf1T (FAM-G₃[T₃AG₃]₃-Tamra) y FPf8T (FAM-G₃[T₂CAG₃]₃-Tamra) con FAM: 6-carboxifluoresceína y Tamra: 6-carboxi-tetrametilrodamina). Las mediciones se llevan a cabo con excitación a 492 nm y detección a 516 nm.

a) Estabilización del cuádruplex:

35 Se llevó a cabo la fusión por fluorescencia. Los resultados se proporcionan en las Fig. 3A - Fig. 3C. Los experimentos se llevaron a cabo con 0,2 μM de F21T, FPf1T o FPf8T en un tampón que contenía cacodilato de litio 10 mM pH 7,2 y NaCl o KCl 100 mM (véase el ejemplo de F21T más abajo, NaCl (izquierda) y KCl (derecha)); la fusión del ADN cuádruplex se controló solo y en presencia de 1 μM (5 equiv.) de compuesto 3.

El efecto de la estabilización inducida por el compuesto 3 con los tres oligonucleótidos se cuantifica mediante el incremento en la temperatura de fusión (ΔT_{1/2}). Los valores se indican en la siguiente tabla.

| $\Delta T_{1/2}$ (°C) | F21T | FPf1T | FPf8T |
|-----------------------|------|-------|-------|
| Na ⁺ | 14,6 | 20,4 | 16,3 |
| K ⁺ | 1,3 | 2,1 | 1,5 |

b) Selectividad de ADN cuádruplex frente al dúplex:

La fusión por fluorescencia se llevó a cabo con 0,2 μ M de F21T en un tampón que contenía cacodilato de litio 10 mM pH 7,2 y NaCl 100 mM; la fusión del cuádruplex de G se controló solo y en presencia de 1 μ M de compuesto 3 sin o con exceso (1, 3 y 10 μ M) de competidor de ADN dúplex ds26 (un ADN dúplex de 26 pares de bases formado por la secuencia auto-complementaria [5'-CAATCGGATCGAATTCGATCCGATTG-3']). Los resultados se proporcionan en la Fig. 4

c) Selectividad intra-cuádruplex:

Los experimentos de fusión por fluorescencia se llevan a cabo con 0,2 μ M de F21T en un tampón que contiene cacodilato de litio 10 mM pH 7,2 y NaCl 100 mM; la fusión del cuádruplex de G se controló solo y en presencia de 1 μ M de compuesto 3 sin o con exceso (1, 3 y 10 μ M) de competidores de ADN cuádruplex, TG5T ([5'-TG₅T-3']₄), un ADN cuádruplex tetramolecular utilizado en el estudio previo (21) o c-myc ([5'-GAGGGTGGGGAGGGTGGGGAAG-3']), una secuencia presente en la región promotora del oncogén c-myc, que muy posiblemente se pliega en una estructura de cuádruplex intramolecular (22-25). Los resultados se proporcionan en las Fig. 5A - Fig. 5B.

d) Resumen

Los diferentes experimentos de fusión por FRET se resumen en la representación gráfica de barras de la Fig. 6.

Estos datos indican que el compuesto 3:

- interacciona eficazmente con cuádruplex teloméricos F21T (humano), FPf1T y FPf8T (*Plasmodium falciparum*) en tampón de sodio si bien no estabilizan estos oligonucleótidos en condiciones con potasio (véase la Tabla), lo que significa que en los tres casos examinados, el compuesto 3 presenta selectividad intra-cuádruplex basada en cationes;

- discierne muy eficazmente entre ADN cuádruplex-dúplex, puesto que la estabilización de F21T (en tampón de sodio) solamente está afectada de manera limitada por la presencia de 1, 3 o 10 μ M de ds26 (la estabilización es >91% mantenida en todos los casos).

- interacciona muy probablemente por medio de interacciones por apilamiento con estructuras de cuartetos de cuádruplex de G externas puesto que la estabilización de F21T es muy sensible a la competición con ADN cuádruplex tetramolecular que no forma bucles (TG5T, F21T manteniéndose la estabilización a 61, 37 y 17% en presencia de 1, 3 y 10 μ M de TG5T respectivamente) o ADN cuádruplex con bucles inversos solo de doble cadena (c-myc, F21T manteniéndose la estabilización a 42, 15 y 1% en presencia de 1, 3 y 10 μ M de c-myc respectivamente).

- Se puede suponer también la interacción del compuesto tanto con tétradas como con bucles dada la drástica diferencia observada entra las condiciones con Na⁺ y K⁺.

Estudio II-2bis: La Fig.16 proporciona los resultados obtenidos en la fusión por FRET, utilizando las mismas condiciones con sodio definidas anteriormente en los apartados a) y b), con los compuestos 3 y 4. La fusión del cuádruplex F21T marcado fluorescentemente se controló solo y en presencia de 1 μ M del compuesto 3 o compuesto 4 sin o con exceso (1,3 y 10 μ M) de competidor de ADN dúplex ds26 (una ADN dúplex de 26 pares de bases formado por la secuencia auto-complementaria mencionada anteriormente [5'-CAATCGGATCGAATTCGATCCGATTG-3']).

Se obtiene un incremento en la temperatura de fusión, escasamente afectada por la presencia de ds26, para ambos compuestos.

Estudio II-3: Interacción con ADN controlada por estudios de fluorescencia

Los compuestos poliheteroaromáticos basados en piridina detallados en este estudio se caracterizan por una fuerte fluorescencia. Notablemente, el rendimiento cuántico no resulta afectado por la naturaleza del disolvente que se utiliza, de condiciones orgánicas puras (p. ej. DMSO) a fisiológicas (p. ej. tampón: cacodilato de sodio 10 mM

+ KCl 100 mM, pH 7,2, véase la Tabla). La modificación de las propiedades de fluorescencia de los compuestos estudiados tras la interacción con el ADN permite comparar su afinidad de unión aparente para diferentes cuádruplex de relevancia biológica (27).

| | DCM | Agua |
|----------------------|--------|--------|
| Rendimiento cuántico | 50,35% | 50,37% |
| d.t. | 2,17% | 2,89% |

5 *NB:* los rendimientos cuánticos (y las desviaciones típicas (d.t.)) del compuesto 3 se midieron en CH₂Cl₂ (DCM) y agua, con antraceno en etanol como referencia.

a) Interacción del cuádruplex:

10 El ADN cuádruplex utilizado en la presente memoria es 22AG: éste resulta del plegamiento de un oligonucleótido de 22nt que imita la secuencia telomérica humana: 22AG es [5'-AG₃(T₂AG₃)₃-3']. La estructura en cuádruplex de 22AG se prepara calentando el oligonucleótido a 90°C durante 5 min en un tampón de cacodilato de sodio 10 mM, pH 7,2, NaCl 100 mM (para 22AG Na) o KCl (para 22AG K) y enfriando en hielo para favorecer el plegamiento intramolecular mediante atrapamiento cinético. Las concentraciones se determinan mediante mediciones UV-Vis (tras la desnaturalización térmica, 5 min a 85°C) a 260 nm antes de su uso. (Véanse las Fig 7A y Fig. 7B).

15 Se añaden cantidades crecientes de 22AG Na (izquierda) o 22AG K (derecha) sobre una disolución de 0,25 µM de compuesto 3 en tampón cacodilato (cacodilato de sodio 10 mM + NaCl 100 mM (derecha) o KCl (izquierda)), lo que da como resultado una extinción progresiva de la fluorescencia del compuesto 3 ($\lambda_{ex} = 340$ nm).

b) Selectividad por ADN cuádruplex frente a dúplex:

20 La selectividad del cuádruplex sobre el dúplex se evalúa por medio de titulaciones de la fluorescencia mediante comparación de experimentos llevados a cabo con 22AG (véase más arriba) y con un ADN dúplex corto: ds17, que es un ADN dúplex de 17 pares de bases que representa una secuencia biológica utilizada en estudios previos (28); las secuencias de las dos hebras complementarias son las siguientes: [5'-CCAGTTCGTAGTAACCC-3']/[5'-GGGTTACTACGAACTGG-3']. La estructura en dúplex se prepara calentando las dos hebras complementarias correspondientes a 90°C durante 5 min en un tampón de cacodilato de sodio 10 mM pH 7,3, KCl 100 mM seguido de un enfriamiento lento a lo largo de 6 horas. Las concentraciones se determinan mediante mediciones de UV-Vis (después de la desnaturalización térmica, 5 min a 85°C) a 260 nm antes de su uso.

Los resultados se proporcionan en la Fig. 8.

30 Las cantidades crecientes de ds17 añadidas a una disolución 0,25 µM del compuesto 3 en tampón de cacodilato (cacodilato de sodio 10 mM + KCl 100 mM) no dan como resultado una extinción progresiva de la fluorescencia del compuesto 3 ($\lambda_{ex} = 340$ nm).

c) Selectividad intra-cuádruplex:

35 La selectividad intra-cuádruplex se evalúa por medio de titulaciones de la fluorescencia por comparación de los experimentos llevados a cabo con 22AG (véase más arriba) y con dos estructuras en cuádruplex diferentes: c-myc y c-kit2. En la actualidad se sospecha vivamente de la formación de estos dos ADN cuádruplex en la región promotora de los oncogenes c-myc (véase más arriba) y c-kit (22; 29 y 30). Las secuencias son las siguientes: c-myc: [5'-TGAGGGTGGGTAGGGTGGGTAA-3'] y c-kit2: [(5'-CGGGCGGGCGGAGGGAGGGG-3']; Las estructuras en cuádruplex se preparan calentando el correspondiente oligonucleótido a 90°C durante 5 min en un tampón de cacodilato de sodio 10 mM pH 7,2, KCl 100 mM y enfriando con hielo para favorecer el plegamiento intramolecular mediante atrapamiento cinético. Las concentraciones se determinan mediante mediciones de UV-Vis (después de la desnaturalización térmica, 5 min a 85°C) a 260 nm antes de su uso.

Los resultados se proporcionan en la Fig. 9A y Fig. 9B.

Se añaden cantidades crecientes de c-myc (izquierda) o c-kit2 (derecha) a una disolución 0,25 µM del compuesto 3 en tampón de cacodilato (cacodilato de sodio 10 mM + KCL 100 mM), lo que da como resultado una extinción progresiva de la fluorescencia del compuesto 3 ($\lambda_{ex} = 340$ nm).

45 d) Resumen:

Las diferentes titulaciones de la fluorescencia ($\lambda_{ex} = 340$ nm) se resumen en la Fig. 10 que proporciona la

representación gráfica:

Estos datos indicaron que el compuesto 3:

- discierne muy eficazmente las matrices de ADN cuádruplex (22AG K, 22AG Na, c-kit 2 y c-myc) del dúplex (ds17), confirmando de ese modo los resultados de fusión por FRET.
- 5 - interacciona más eficaz y rápidamente con 22AG Na, c-kit 2 y c-myc, mientras su interacción con 22AG K es más débil; estos resultados son coherentes con lo observado por medio de los experimentos de fusión por FRET, y representan una opción prometedora en la selectividad intra-cuádruplex.

Estudio II-4: Estudios de dicroísmo circular

10 El dicroísmo circular (DC) permite un estudio profundo de la modificación de la estructura del ADN tras la unión de un ligando; de este modo refleja la afinidad del ligando a su diana, y también puede proporcionar una visión general de su modo de unión (Paramasivan et al., Methods, 2007, 43, 324).

a) Interacción de cuádruplex:

15 El ADN cuádruplex utilizado en la presente memoria es 22AG (véase más arriba), hibridado en un tampón de cacodilato de sodio 10 mM pH 7,2, NaCl 100 mM (para 22AG Na) o KCl (para 22AG K). A una disolución 3 μ M de 22AG en ambos tampones se le añade un exceso del compuesto 3 (30 μ M, 10 equiv.). Los resultados se proporcionan en la Fig. 11. La interacción del compuesto 3 con los cuádruplex se controla como una función del tiempo: esto da como resultado una modificación de la amplitud de la señal de DC de 22AG Na (izquierda, especialmente a 263 nm), mientras se reorganiza completamente la estructura de 22AG K (derecha, especialmente a 263 nm).

20 b) Selectividad intra-cuádruplex:

25 La selectividad cuádruplex se evalúa a través del DC mediante comparación de los experimentos llevados a cabo con 22AG (véase más arriba) y con otras dos estructuras en cuádruplex: c-myc y c-kit2 (véase más arriba). Los resultados se proporcionan en las Fig. 11A y Fig. 11B. A una disolución 3 μ M de c-kit2 (izquierda) y c-myc (derecha) en tampón de cacodilato (cacodilato de sodio 10 mM + KCl 100 mM) se le añade un exceso del compuesto 3 (30 μ M, 10 equiv.). La interacción del compuesto 3 con los cuádruplex se controla como una función del tiempo: da como resultado una modificación de la amplitud de la señal de DC de c-kit2 (especialmente a 285 nm) y, en un grado menor, de c-myc (285 nm).

c) Inducción a la estructura de cuádruplex:

30 El equilibrio entre las formas plegada y no plegada del oligonucleótido 22AG es muy sensible a la presencia y la naturaleza del tampón que se utiliza. Los resultados correspondientes se proporcionan en las Fig. 12A y Fig. 12B. En un tampón poco catiónico como Tris-HCl 10 mM, pH 7,2, 22AG está mayoritariamente desplegado (enrollado al azar); por lo tanto es posible influir en el equilibrio plegado <-> desplegado añadiendo compuesto 3. De este modo, a una disolución 3 μ M de 22AG enrollado al azar en tampón Tris-HCl se le añaden cantidades crecientes de compuesto 3 (de 0 a 7,5 equiv.); esto da como resultado una profunda modificación de la señal de DC de 22AG, con una desaparición de la señal a 257 nm típica de la bobina enrollada en beneficio de dos máximos novedosos, uno positivo (próximo a 290 nm) y uno negativo (próximo a 265 nm), siendo ambos típicos de la firma del DC de la estructura de ADN cuádruplex "anti-paralela" (como 22AG Na, véase más arriba).

d) Resumen:

Estos datos indicaron que el compuesto 3:

- 40 - interacciona eficazmente y casi espontáneamente con 22AG Na, mientras reacciona eficazmente, pero más lentamente con 22AG K, lo que es coherente con las titulaciones de fluorescencia y los resultados de los experimentos de fusión por FRET.
- interacciona con c-myc y c-kit2, pero su interacción no modifica la estructura de estos dos cuádruplex.
- es capaz de desplazar el equilibrio entre las formas no plegada y plegada de 22AG hacia la plegada.

45 III- Métodos y datos biológicos:

Estudio III-1: Inhibición de la unión de POT1 a la secuencia telomérica *in vitro* por el compuesto 3

50 Se llevó a cabo un análisis de desplazamiento de la movilidad electroforética utilizando hPOT1 sobre el oligonucleótido 22AG telomérico (véase más arriba). Se marcó 22AG en el extremo 5' con [γ -³²P]-ATP utilizando polinucleótido quinasa de T4. Se produjo hPOT1 recombinante purificada en un sistema de expresión de baculovirus. El análisis de unión POT1/22AG se llevó a cabo en un volumen total de 10 μ l que contenía HEPES 50

mM, pH 7,9, NaCl 100 mM, EDTA 0,1 mM, sacarosa al 4% p/v, glicerol al 2% v/v, 0,1 mg/ml de BSA, azul de bromofenol al 0,02% p/v, hPOT1 30 nM, [α - 32 P]-22AG 20 nM. Se añadieron diferentes concentraciones de compuesto 3 (10, 1, 0,1 y 0,01 μ M) con hPOT1 a la disolución y la mezcla se incubó a la temperatura ambiente durante 30 min. Cada muestra individual se separó mediante electroforesis sobre gel de agarosa al 1% en 0,5X tampón Tris-Borato-EDTA. El gel se hizo circular a 80 V durante 35 min, se secó sobre papel Whatman DE81 y se visualizó la radiactividad por medio de un aparato Fosforimager (Typhoon 9210, Amersham). El análisis de los datos se llevó a cabo por medio del programa ImageQuant (Amersham) y los resultados se expresaron como un porcentaje del complejo de POT1-22AG obtenido en el control no tratado (definido como 100%) (véase la Fig. 14).

Estos datos indicaron que el compuesto 3 inhibe la unión de hPOT1 a la secuencia de 22AG telomérico de una manera dependiente de la dosis. En el experimento mostrado más abajo la $CI_{50-POT1}$ para el compuesto 3 es igual a 300 nM.

Estudio III-2: Inhibición de la proliferación celular por el compuesto 3

La línea celular de fibrosarcoma humano HT1080 transfectada establemente con el vector pEGFP-POT1 (HT1080GFP-POT1) ha sido descrita previamente (32) y el osteosarcoma humano U2OS era de la Colección de Cultivos Tipo Americana (Rockville, USA). Las células se hicieron crecer en medio de Eagle Modificado de Dulbecco (Invitrogen) con un suplemento de suero bovino fetal al 10% v/v y con 400 μ g/ml de geneticina para HT1080GFP-POT1. Las células se cultivaron en placa en placas para el cultivo de tejidos de 6 pocillos el día 0 a $4,5 \times 10^4$ células/pocillo en presencia de diferentes concentraciones de compuesto 3 (10, 3, 1, 0,3 y 0,1 μ M), cada concentración por duplicado, y se cultivaron durante 72 horas más. El día 3, las células se lavaron con 1X PBS y se trataron con tripsina. Para cada muestra celular tratada, el número de células viables se determinó en presencia de azul de tripán. Los resultados se proporcionan en la Fig. 15A y Fig.15B. éstas corresponden al número relativo de células en tanto por ciento en comparación con las células no tratadas de control definidas como 100%.

Estos datos indican que el compuesto 3 obstaculiza eficazmente la proliferación de las células cancerosas con una CI_{50} comprendida entre 0,1 y 1 μ M.

Aunque la invención se ha descrito anteriormente con referencia a las realizaciones descritas, los expertos en la técnica apreciarán fácilmente que los experimentos específicos detallados son solamente ilustrativos de la invención. Por consiguiente, la invención está limitada solamente por las siguientes reivindicaciones.

Referencias bibliográficas

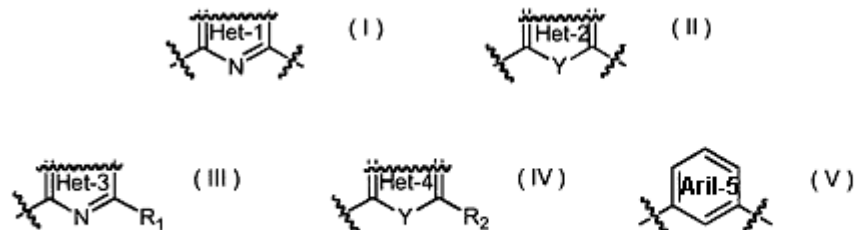
- 1 - Qin et al., 2008, *Biochimie*, 90, 1149
- 2- Hurley, *Nature Reviews Cancer*, 2002, 2, 188
- 3 - Neidle, et al., *Nature Reviews Drug Discovery*, 2002, 1, 383
- 5 4- Mergny et al., *Nucleic Acids Res.*, 2002, 30, 839
- 5 - Rezler et al., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2003, 43, 359
- 6 - Neidle et al., *Nature Reviews Cancer*, 2005, 5, 285;
- 7- Oganessian et al., *BioEssay*, 2007, 29, 155;
- 8 - De Cian et al., *Biochimie*, 2008, 90, 131; Monchaud et al., *Org. Biomol. Chem.*, 2008, 6, 627;
- 10 9 - Ou et al., *ChemMedChem*, 2008, 3, 690)
- 10 - De Cian et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2007, 104, 17347
- 11 - Tauchi et al., *Oncogene*, 2003, 22, 5338
- 12 - Tahara et al., *Oncogene*, 2006, 25, 1955)
- 13 - (Gomez et al., *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 41487)
- 15 14 - (Gomez et al., *J. Biol. Chem.*, 2006, 281, 38721)
- 15 - Gomez et al., *Cancer Res.*, 2006, 66, 6908)
- 16 - (Doi et al., *Org. Lett.*, 2006, 8, 4165)
- 17 - Tera et al., *Heterocycles*, 2006, 69, 505
- 18 - Barbieri et al., *Nucleic Acids Res.*, 2007, 35, 3272
- 20 19 - Tera et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, 47, 5557
- 20 - De Cian et al., *Métodos*, 2007, 42, 183
- 21 - (De Cian et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129, 1856)
- 22 - Qin et al., 2008, *Biochimie*, 90, 1149;
- 23 - Simonsson et al., *Nucleic Acids Res.*, 1998, 26, 1167
- 25 24 - Ambrus et al., *Biochemistry*, 2005, 44, 2048
- 25 - Rangan et al., *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 4640
- 26 - Siddiqui-Jain et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2002, 99, 11593) 27-(26).
- 28 - Teulade-Fichou et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 4732
- 29 - Rankin et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 10584;
- 30 30 - Fernando et al., *Biochemistry*, 2006, 45, 7854
- 31 - Paramasivan et al., *Methods*, 2007, 43, 324
- 32 - Gomez et al., *J. Biol. Chem.*, 2006, 281, 38721

LISTADO DE SECUENCIAS

| | | |
|----|---|----|
| | <110> Institut Curie Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) | |
| 5 | Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) | |
| | <120> Derivados de poli-heteroarilo y aplicaciones biológicas | |
| 10 | <130> CP 62955-3339 | |
| | <150> EP 08 168 104.1 <151> 2008-10-31 | |
| 15 | <160> 12 | |
| | <170> PatentIn versión 3.3 | |
| | <210> 1 | |
| 20 | <211> 6 <212> ADN <213> Secuencias Artificiales | |
| | <220> | |
| 25 | <223> Oligonucleótidos | |
| | <400> 1 ttaggg | 6 |
| 30 | <210> 2 <211> 21 <212> ADN <213> Secuencias Artificiales | |
| 35 | <220> <223> Oligonucleótidos | |
| | <400> 2 gggttaggt taggtagg g | 21 |
| 40 | <210> 3 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencias Artificiales | |
| 45 | <220> <223> oligonucleótidos | |
| | <400> 3 gggttaggg ttagggttt aggg | 24 |
| 50 | <210> 4 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencias Artificiales | |
| 55 | <220> <223> Oligonucleótidos | |
| | <400> 4 gggttcaggg ttcagggttc aggg | 24 |
| 60 | <210> 5 <211>26 | |
| 65 | | |

REIVINDICACIONES

1. Los derivados de penta- hexa-, hepta-, octa-, nona- y, deca-heteroarilo, opcionalmente marcados isotópicamente, que comprenden una combinación de heterociclo 1 (Het-1)_a y/o heterociclo 2 (Het-2)_b y/o heterociclo 3 (Het-3)_c y/o heterociclo 4 (Het-4)_d de fórmulas I, II, III y IV respectivamente,



5 los N-óxidos, las sales de adición farmacéuticamente aceptables, II

- comprendiendo dicha combinación al menos dos radicales heterocíclicos diferentes, y comprendiendo opcionalmente un radical (Ariilo-5)_e de fórmula (V), y en donde uno o varios de dichos radicales están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes, seleccionado cada uno independientemente entre alquilo C₁-C₆; alquil(C₁-C₄)oxi; halo; hidroxil; nitro; amino; mono- o di(alquil C₁-C₄)amino; alquil(C₁-C₄)metilamino; morfolin-4-il-alquil(C₂-C₄)oxi; piperazin-1-il-alquil(C₂-C₄)oxi; 4-alquil(C₁-C₄)piperazin-1-il-alquil(C₂-C₄)oxi; anillo monocíclico o bicíclico seleccionado entre fenilo, bencilo, y naftilo,

- siendo a, b y e, números enteros de 0 a 6, c y d son números enteros de 0 a 2, siendo la suma de a + b + c + d + e ≤ 10

15 - Y es O o S;

Het-1 es una clase de anillo heterocíclico-diilo que contiene nitrógeno seleccionado del grupo que comprende 2,6-piridin-diilo o 2,4-pirimidin-diilo o 3,5-pirazin-diilo o 2,4-(1,3,5-triazin)diilo o 3,5-(1,2,4-triazin)diilo o 2,4-oxazolin-diilo o 2,4-tiazolin-diilo;

20 - Het-2 es una clase de anillo heterocíclico-diilo de cinco miembros seleccionado del grupo que comprende 2,5-oxazolin-diilo o 2,5-tiazolin-diilo, o 2,5-tiofen-diilo o 2,5-furan-diilo;

- Het-3 y/o Het-4 constituyen las terminaciones de los derivados de penta- a deca-heteroarilo mencionados, en donde

- Het-3 es una clase de anillo heterocíclico-ilo que contiene nitrógeno seleccionado entre 2-piridilo o 2-pirimidilo o 4-pirimidilo o 2-pirazilo o 2-(1,3,5)triazilo o 3-(1,2,4)triazilo o 5-(1,2,4)triazilo o 4-oxazolilo o 4-tiazolilo;

25 - Het-4 es una clase de heterociclilo de cinco miembros seleccionado entre 2-oxazolilo o 5-oxazolilo o 2-tiazolilo o 5-tiazolilo o 2-tienilo o 2-furanilo 1;

30 - R₁ y R₂, se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno; alquilo C₁-C₆; alquil(C₁-C₄)oxi; halo; hidroxil; hidroximetil; nitro; amino; mono- o di(alquil C₁-C₄)amino; alquil(C₁-C₄)metilamino; mono- o di(alquil C₁-C₄)aminoalquil(C₂-C₄)aminometil; morfolin-4-ilo alquil(C₂-C₄)oxi; piperazin-1-il-alquil(C₂-C₄)oxi; 4-alquil(C₁-C₄)piperazin-1-ilo, monocíclico o bicíclico seleccionado entre fenilo, bencilo, naftilo.

35 2. Los derivados de la reivindicación 1, en donde uno o varios de dichos radicales están sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes, seleccionados cada uno independientemente entre alquilo C₁-C₆; alquil(C₁-C₄)oxi; halo; hidroxil; nitro; amino; mono- o dialquil(C₁-C₄)amino; alquil(C₁-C₄)metilamino; morfolin-4-ilalquil(C₂-C₄)oxi; piperazin-1-ilalquil(C₂-C₄)oxi; 4-alquil(C₁-C₄)piperazin-1-ilalquil(C₂-C₄)oxi; anillo monocíclico o bicíclico seleccionado entre fenilo, bencilo, naftilo.

3. Los derivados de la reivindicación 1 o 2, que comprenden al menos 5, al menos 7, al menos 8, al menos 9 o 10 radicales heterocíclicos.

4. Los derivados de la reivindicación 3, que comprenden adicionalmente uno o varios radicales 1,3-fenilen-diilo.

40 5. Los derivados de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que tienen una de las siguientes estructuras:

- (Het-4 sustituido con R₂) - (Het-1) - (Het-4 sustituido con R₂)

- (Het-3 sustituido con R1) - (Het-2) - (Het-3 sustituido con R1)
- (Het-3 sustituido con R1) - (Het-2) - (Het-1) - (Het-2) - (Het-3 sustituido con R1)
- (Het-3 sustituido con R1) - (Het-2)-1,3-fenilen-diilo - (Het-2) - ((Het-3 sustituido con R1)
- (1,3-fenilen-diilo- sustituido con R1 o R2) - (Het-2) - (Het-1) - (Het-2) - (1,3-fenilen-diilo- sustituido con R1 o R2)

- 5 - (Het-3 sustituido con R1) - (Het-2) - (Het-1) - (Het-2) - ((Het-3 sustituido con R1)
- (Het-3 sustituido con R1) - (Het-2) - (Het-1) - (Het-1) - (Het-2) - ((Het-3 sustituido con R1)

6. Los derivados de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde

. R1 y R2 son grupos oxazolin- o piridin-diilo, y/o

. Het-2 es un grupo oxazolin-diilo y/o

- 10 . Het-1 es un grupo 2,6-piridin-diilo, 2,6-pirimidin-diilo, 2,6-pirazin-diilo, o 1,3-fenilen-diilo.

7. Un derivado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde uno o más átomos son remplazados por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o un número másico diferentes de la masa atómica o el número másico normalmente encontrados en la naturaleza.

8. Los derivados de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso como fármacos.

- 15 9. Las composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de al menos un derivado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, combinado con un portador farmacéuticamente aceptable.

10. Las composiciones farmacéuticas de la reivindicación 9, en formas adecuadas para una administración por la ruta oral o parenteral.

- 20 11. Las composiciones farmacéuticas de la reivindicación 9 o 10, para su uso en el tratamiento del cáncer e enfermedades infecciosas, tales como la malaria.

12. El uso de los derivados de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, para elaborar un fármaco para el tratamiento del cáncer o las enfermedades infecciosas.

13. Un método para preparar derivados de poliheteroarilo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende

- 25 • hacer reaccionar X1-A-X2
- con B-X3 o con X4-B-X3

en donde

- 30 - A es una cadena de di- o tri- o tetra-heteroarilo-1,4 y B es un (mono- o di- o tri- o tetra-heteroarilo-1,4)-, comprendiendo los radicales heteroarilo opcionalmente uno, dos, tres o cuatro radicales Aril-5 o radicales terminales Aril-5

- Siendo heteroarilo-1,4 una combinación de Het-1 y/o Het-2 y/o Het-3 y/o Het-4 que se definen como antes,

- X1 y X2, idénticos o diferentes, representan hidrógeno o halógeno o un grupo triflato,

- X3 representa halógeno o un grupo halogenuro de cinc o trialkilestaño o boronato

- X4 representa un grupo carboxaldehído

- 35 en condiciones que proporcionan los derivados poliheteroarílicos deseados.

14. El uso de los derivados de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, como sondas específicas de cuádruplex de ADN.

15. El uso de los derivados de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para la detección y/o purificación de ADN cuádruplex o una estructura de ácido nucleico relacionada.

- 40

Fig. 1

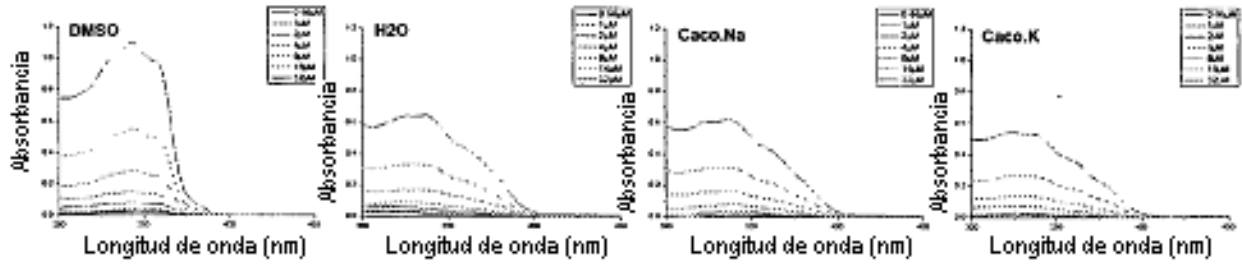


Fig. 2

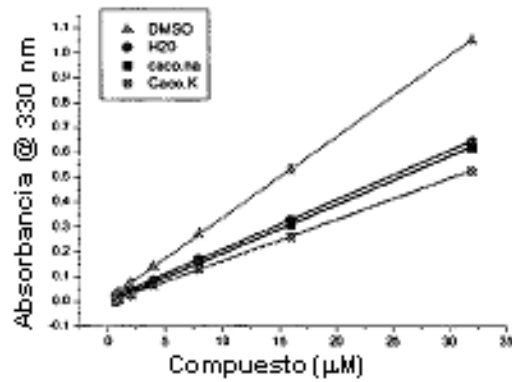


Fig.3

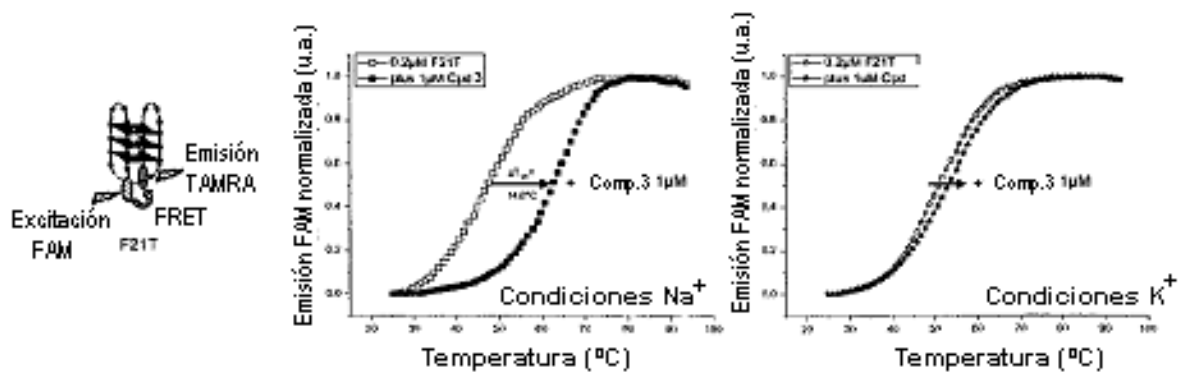


Fig.4

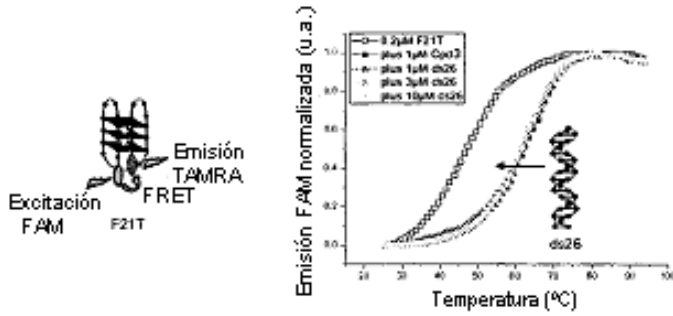


Fig.5

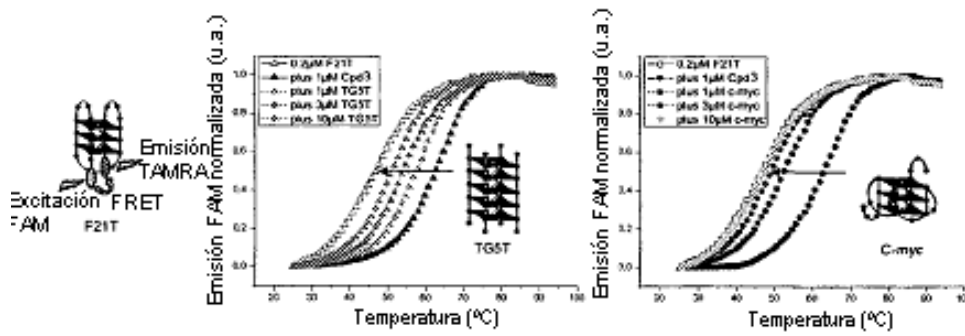


Fig.6

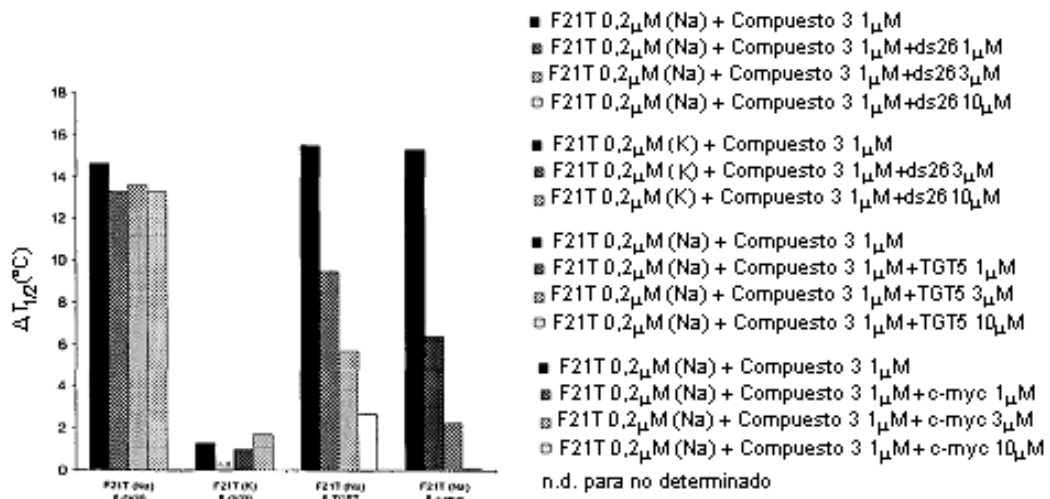


Fig.7

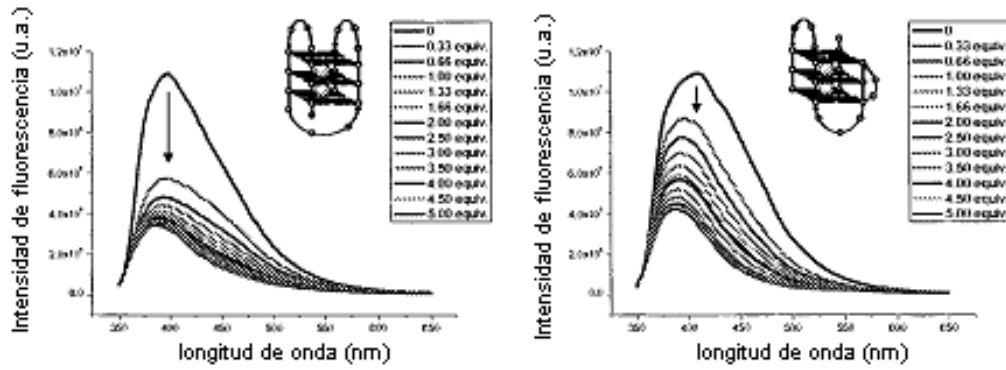


Fig.8

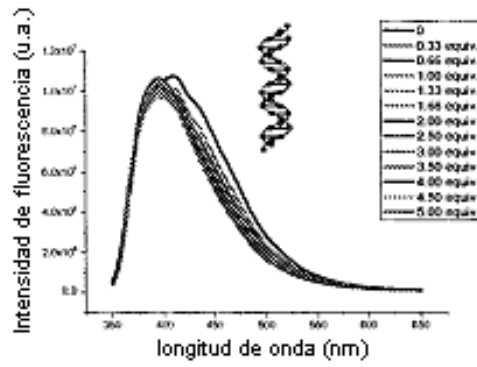


Fig. 9

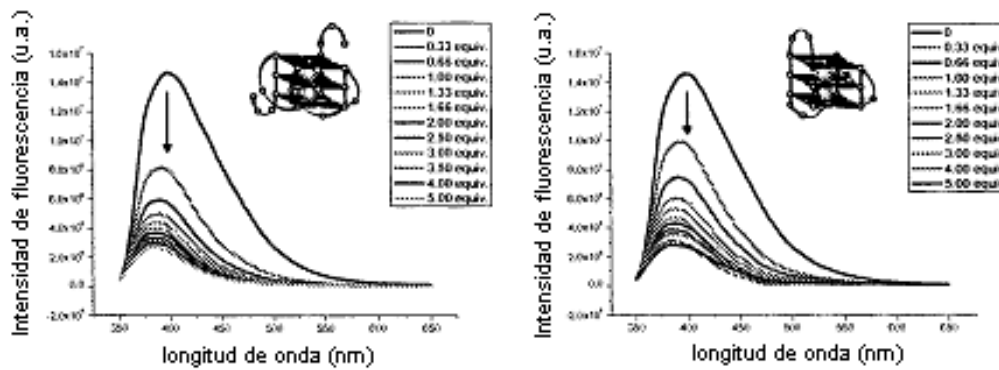


Fig.10

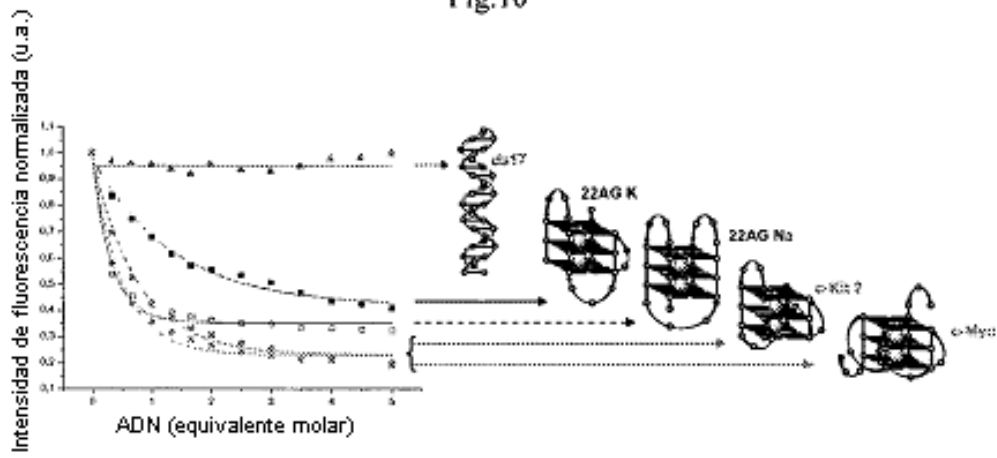


Fig.11

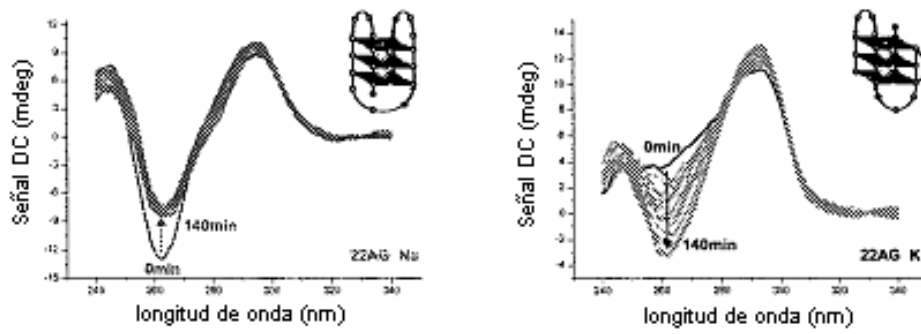


Fig.12

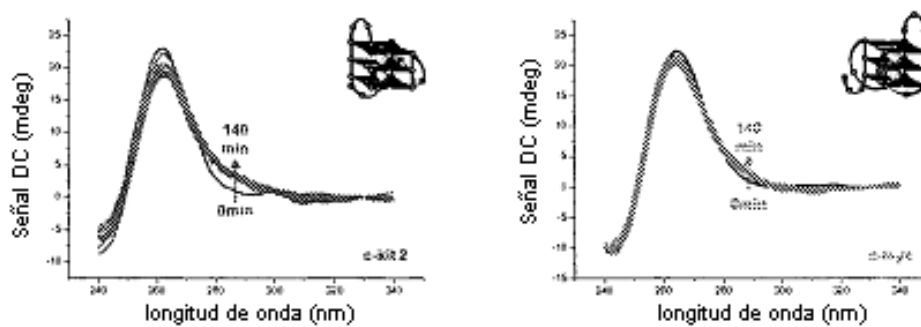


Fig.13

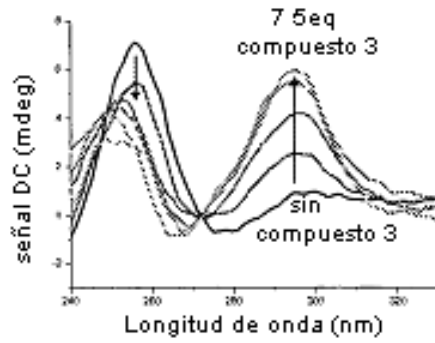


Fig.14

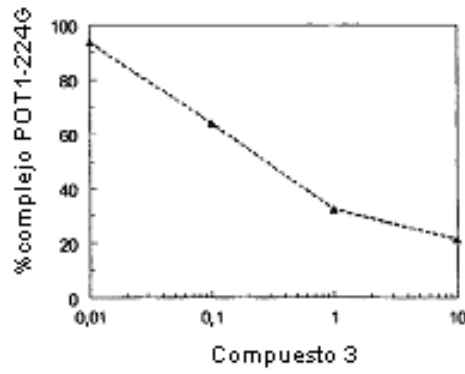
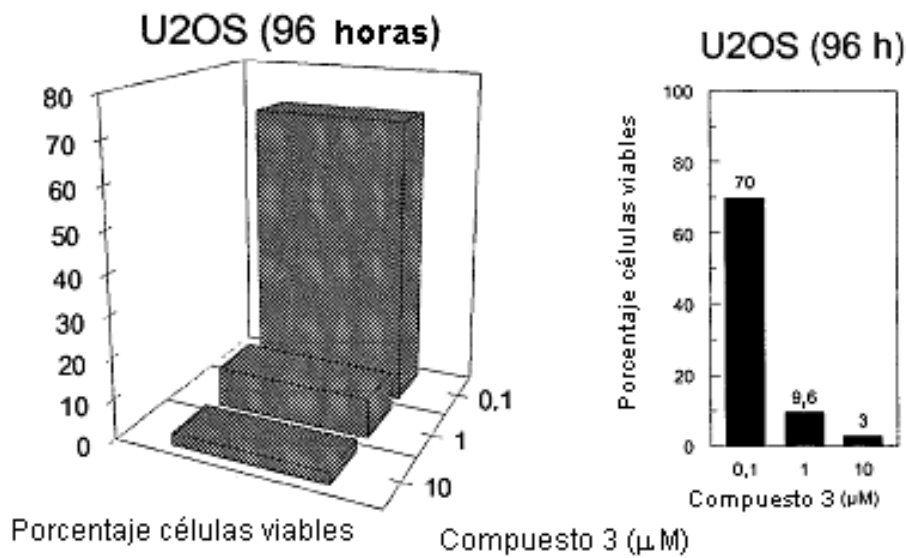


Fig.15



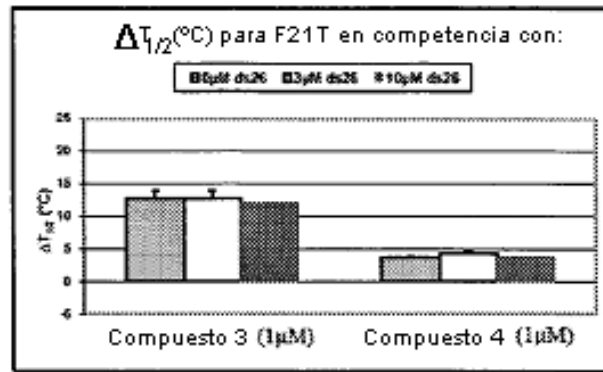


Figura 16