

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 566 430**

21 Número de solicitud: 201431319

51 Int. Cl.:

C07C 69/78 (2006.01)

C07D 213/30 (2006.01)

C07D 307/42 (2006.01)

A61K 31/235 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

12.09.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

12.04.2016

56 Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2015/070662

71 Solicitantes:

**INSTITUTO ARAGONES DE CIENCIAS DE LA
SALUD (40.0%)**

CIBA Avda. San Juan Bosco 13 planta 1

50009 Zaragoza ES;

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA (26.5%);

**FUNDACION AGENCIA ARAGONESA PARA LA
INVESTIGACION Y DESARROLLO (ARAIID)**

(20.0%) y

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTIFICAS (13.5%)**

72 Inventor/es:

KÖHLER, Ralf;

OLIVAN VIGUERA, Aida;

BADORREY MIGUEL, Ramon;

GALVEZ LAFUENTE, Jose Antonio y

DIAZ DE VILLEGAS SOLANS, Maria Dolores

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **Esteres de di-benzoato y su uso terapéutico como moduladores negativos de canales de potasio KCa2/3**

57 Resumen:

Esteres de di-benzoato y su uso terapéutico como moduladores negativos de canales de potasio KCa2/3.

La presente invención se refiere a un grupo de compuestos con un núcleo de éster de benzoato que presentan capacidad de modular los canales de potasio de la familia KCa2/3, por lo que son útiles para el tratamiento de enfermedades o trastornos en los que están implicados estos canales, tales como hiperemia, hipotensión, taquicardia, insuficiencia cardiaca, debilidad muscular, hiperplasia, hipoexcitabilidad neuronal, dolor, angiogénesis y proliferación tumoral, inflamación crónica del intestino, y enfermedades autoinmunes, periféricas o neurológicas relacionadas con una actividad anormal de macrófagos y células T y B.

ES 2 566 430 A1

DESCRIPCIÓN

Esteres de di-benzoato y su uso terapéutico como moduladores negativos de canales de potasio $KCa_{2/3}$

5

La presente invención se refiere a un grupo de compuestos con un núcleo de éster de benzoato que presentan capacidad de modular los canales de potasio de la familia $KCa_{2/3}$, por lo que son útiles para el tratamiento de enfermedades o trastornos en los que están implicados estos canales, tales como hiperemia, hipotensión, taquicardia, insuficiencia cardiaca, debilidad muscular, hiperplasia, hipoexcitabilidad neuronal, dolor, angiogénesis y proliferación tumoral, inflamación crónica del intestino, y enfermedades autoinmunes, periféricas o neurológicas relacionadas con una actividad anormal de macrófagos y células T y B.

15 Por tanto, la presente invención se puede englobar en el campo de la química médica o de la farmacología.

ESTADO DE LA TÉCNICA

20 Los canales de potasio de la familia génica $KCa_{2/3}$ son proteínas de membrana con múltiples subunidades que regulan las funciones fisiológicas y patofisiológicas de multitud de órganos, como las funciones neuronales (liberación de transmisores y excitabilidad), la contractilidad del músculo liso, cardíaco o esquelético, así como funciones epiteliales, endoteliales e inmunológicas. Estos canales están implicados en el transporte en la mucosa bronquial e intestinal y en el control endotelial del tono arterial y la regulación de la presión sanguínea, así como en angiogénesis. A nivel celular, los canales $KCa_{3.1}$ regulan el volumen celular y la homeostasis del calcio, la progresión del ciclo celular y la producción de citoquinas. También se ha propuesto que estos canales regulan procesos patológicos tales como la proliferación celular anormal (proliferación de células endoteliales, angiogénesis, formación de la neoíntima, neoplasia, fibrosis) e inflamación, mediante el control de la proliferación de células T, de la actividad de macrófagos y microglía, y posiblemente de funciones de las células B. Recientes evidencias sugieren que los canales $KCa_{2/3}$ neuronales podrían jugar papeles en el comportamiento (posiblemente en síndromes de déficit de

atención e hiperactividad) y en la memoria de aprendizaje, así como en neuroprotección en enfermedades del Sistema Nervioso Central (SNC), y en accidentes cerebrovasculares, sedación y dolor.

- 5 El documento US2011/0280940 describe una familia de ésteres de dibenzoato y su uso en el tratamiento de cáncer, Alzheimer o Parkinson entre otras enfermedades.

El documento de Lamoral-Theys et al. (Bioorganic & Medicinal Chemistry 18 (2010) 3823–3833) describe una serie de ésteres de dibenzoato que presentan capacidad
10 citoestática frente a células cancerosas.

El documento de Baba et al. (J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 9740-9749) describe una serie de compuestos inhibidores de Ser/Thr fosfatasas, entre los que se encuentran ésteres de dibenzoato, y su potencial uso como inhibidores de la proliferación de
15 células T.

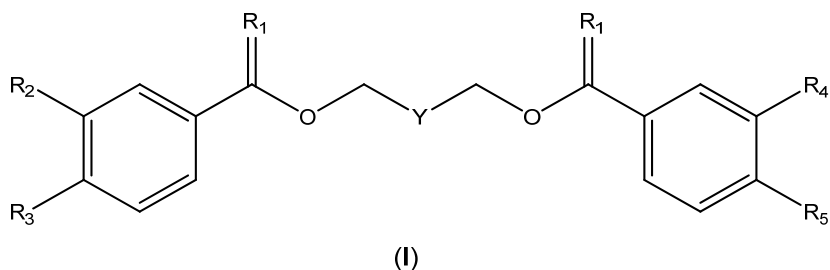
Los tratamientos actuales de las enfermedades cardiovasculares caracterizadas por un flujo sanguíneo anormal e hiperemia periférica o en el sistema de las arterias coronarias, hipotensión sistémica fatal (shock, hipotensión sistémica tras reanimación,
20 hipotensión perioperatoria causada por sobredosis de anestésicos, fallo o insuficiencia cardíaca), angiogénesis patológica y tumoral, neoplasia y formación de la neoíntima, y de enfermedades autoinmunes (esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis) y enfermedades inflamatorias crónicas (colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn) tienen potencial para producir mejoras en estas enfermedades, pero habitualmente son
25 insatisfactorios o vienen acompañados de fuertes efectos secundarios. Además de estas enfermedades, las opciones de tratamiento para proliferación celular anormal (cáncer, hiperplasia), angiogénesis perjudicial en retinopatías diabéticas y enfermedades neurodegenerativas, están subdesarrolladas o carecen de la eficacia deseada. Esto genera una necesidad de tratamientos y dianas terapéuticas
30 alternativas y mejoradas.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los inventores han encontrado una familia de compuestos químicos con un núcleo de éster de dibenzoato que son moduladores de los canales de $KCa_{2/3}$, por lo que son
 5 útiles para el tratamiento de enfermedades en las que se produce un funcionamiento anormal de estos canales.

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

10



donde

- Y se selecciona de entre un grupo arilo o heterociclo,
- 15 - R_1 se selecciona de entre azufre u oxígeno,
- R_2 se seleccionan de entre H, F, Cl, Br o I,
- R_3 se selecciona de entre H, OH o NHR_6 ,
- R_4 se selecciona de entre F, Cl, Br o I,
- R_5 se selecciona de entre H, OH, NHR_6 o O-alquilo C_1-C_4 y
- 20 - R_6 se selecciona de entre H, alquilo C_1-C_4 .

con la condición de que cuando Y es 1,3-fenilo, éste no presenta ningún sustituyente en la posición 5.

- 25 El término "arilo" se refiere en la presente invención a una cadena carbocíclica aromática, que tiene de 5 a 18 átomos de carbono, preferiblemente de 6 a 14 átomos de carbono y más preferiblemente de 6 a 10, pudiendo ser de anillo único ó múltiple, en este último caso con anillos separados y/o condensados. Ejemplos no limitantes de grupo arilo son fenilo, naftilo, indenilo, etc. Preferiblemente el grupo arilo es un fenilo.
- 30 Los grupos arilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes

tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, carbonilo, ciano, acilo, alcoxycarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

El término “heterociclo” se refiere, en la presente invención, a un radical estable
 5 monocíclico o bicíclico de 5 a 15 miembros, que está insaturado, saturado o
 parcialmente saturado, y que consiste en átomos de carbono y al menos un
 heteroátomo seleccionado del siguiente grupo: nitrógeno, oxígeno o azufre.
 Preferiblemente tiene de 5 a 10 miembros con uno o más heteroátomos y más
 preferiblemente de 5 a 6 miembros con uno o más heteroátomos. Ejemplos de
 10 heterociclos pueden ser, no limitativamente: azepinas, indoles, imidazoles, isotiazoles,
 tiadiazoles, furano, tetrahidrofurano, benzimidazol, benzotiazol, piperidina, piperazina,
 purina, quinolina. Preferiblemente el grupo heterociclo es piridina. Los grupos
 heterociclo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales
 como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, carbonilo, ciano, acilo, alcoxycarbonilo,
 15 amino, nitro, mercapto y alquiltio.

El término “alquil” se refiere, en la presente invención, a radicales de cadenas
 hidrocarbonadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 4 átomos de carbono,
 preferiblemente de 1 a 2, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace
 20 sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo,
 etc. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más
 sustituyentes tales como halógeno (denominándose haloalquilo), hidroxilo, alcoxilo,
 carboxilo, carbonilo, ciano, acilo, alcoxycarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

25 En una realización preferida, R₁ es oxígeno.

En otra realización preferida, Y se selecciona de entre fenilo, piridilo, tiofenilo, furanilo,
 pirrolilo, tiazolilo.

30 En una realización más preferida, Y se selecciona de entre 1,2-fenilo, 1,3-fenilo o 1,4-
 fenilo.

En otra realización más preferida, Y se selecciona de entre 3,5-piridilo o 2,6-piridilo.

En otra realización más preferida, Y se selecciona de entre 2,5-tiofenilo o 3,4-tiofenilo.

En otra realización más preferida, Y es 3,4-furanilo.

5 En una realización preferida, R₂ es F.

En otra realización preferida, R₃ es OH.

En una realización preferida, R₄ es F.

10

En otra realización preferida, R₅ es OH.

En otra realización preferida, R₆ es H o metilo.

15 En una realización preferida, el compuesto de fórmula (I) se selecciona de la siguiente lista:

- bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato) de 1,3- fenilenbis(metileno)
- bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato) de 1,2- fenilenbis(metileno)
- bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato) de 1,4- fenilenbis(metileno)
- 20 - 2,6-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)piridina
- 3,4-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)furano
- 3,4-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)tiofeno
- 2,5-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)tiofeno

25 Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (I), y más concretamente, los compuestos específicos pertenecientes a esta fórmula general anteriormente descrita pueden incluir isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo, Z, E), incluyendo isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o

30 diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención. Los enantiómeros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

Los compuestos de la invención 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 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 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.

Para su aplicación en terapia, los compuestos de fórmula (I), sus isómeros, sales, o solvatos, se encontrarán, preferentemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, que tiene un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente superiores al 70%, más preferiblemente superior al 90%. En una realización preferida, son superiores al 95% del compuesto de fórmula (I), o de sus sales o solvatos.

A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención 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.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según descrito anteriormente, en una cantidad terapéuticamente efectiva.

Esta composición farmacéutica incluye adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en dichas composiciones y son conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

5

En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad del agente o compuesto capaz de tener un efecto modulador de los canales de $KCa_{2/3}$, y calculada para producir el efecto deseado *in vivo* y, en general, vendrá determinada, entre otras causas, por las características propias de los compuestos, incluyendo la edad, estado del paciente, la severidad de la alteración o trastorno, y de la ruta y frecuencia de administración.

En otra realización particular, dicha composición terapéutica se prepara en forma de una forma sólida o suspensión acuosa, en un diluyente farmacéuticamente aceptable.

15 La composición terapéutica proporcionada por esta invención puede ser administrada por cualquier vía de administración apropiada, para lo cual dicha composición se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. En una realización particular, la administración de la composición terapéutica proporcionada por esta invención se efectúa por vía oral, tópica, rectal o parenteral

20 (incluyendo subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.). Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de medicamentos y de los excipientes necesarios para la obtención de las mismas puede encontrarse, por ejemplo, en el “Tratado de Farmacia Galénica”, C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madrid, u en otros habituales o similares de la Farmacopeas Española

25 y en Estados Unidos.

Otro aspecto de la invención se refiere a un agente anestésico que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según descrito anteriormente.

30 Los compuestos descritos en la presente invención, sus sales farmacéuticamente aceptables y solvatos así como las composiciones farmacéuticas que los contienen pueden ser utilizados junto con otros fármacos adicionales para 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 un profármaco, solvato, derivado o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) según descrito anteriormente para la fabricación de un medicamento.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o

10 trastorno que se selecciona de entre hiperemia, hipotensión, taquicardia, insuficiencia cardíaca, debilidad muscular, hiperplasia, hipoexcitabilidad neuronal, dolor, angiogénesis y proliferación tumoral, inflamación crónica del intestino, y enfermedades autoinmunes, periféricas o neurológicas relacionadas con una actividad anormal de macrófagos y células T y B.

15 Otro aspecto de la invención es un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno en el que una regulación anormal de los canales de $KCa_{2/3}$ está implicada y que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) como descrito anteriormente a un paciente que lo necesite.

20 Preferiblemente la enfermedad o trastorno se selecciona de entre hiperemia, hipotensión, taquicardia, insuficiencia cardíaca, debilidad muscular, hiperplasia, hipoexcitabilidad neuronal, dolor, angiogénesis y proliferación tumoral, inflamación crónica del intestino, y enfermedades autoinmunes, periféricas o neurológicas relacionadas con una actividad anormal de macrófagos y células T y B.

25 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

30 invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

FIG. 1. Muestra el efecto inhibitor del compuesto (2) sobre canales KCa3.1 (A) y KCa2.3 (B) y el antagonismo de la modulación positiva de la apertura/cierre causada por SKA-31 (C).

FIG. 2. Muestra las grabaciones de tensión isométrica en anillos de arterias coronarias (PCA): compuesto (2) (1 μ M) aumenta la tensión inducida por 5-HT (1 μ M) en presencia de L-NNA e INDO. El vehículo es DMSO. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM; n = 8-10; * P<0.05 en test T de Student, con dos colas, pareado.

FIG. 3. Muestra el efecto del compuesto (2) (1 μ M) sobre las relajaciones inducidas por BK (1 μ M) en presencia de L-NNA e INDO pre-contraídas con 1 μ M 5-HT. El vehículo es DMSO. El efecto es más pronunciado a concentraciones bajas de BK. Los datos se muestran como medias $\pm$ SEM. * P<0.05, test T de Student con dos colas, pareado.

FIG. 4. Muestra el efecto del compuesto (2) sobre la relajación inducida por bradiquinina (BK) en PCA fuertemente precontraídas con U46619 (0,2 μ M) en presencia de L-NNA e INDO. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM (n=5-6 para cada uno); **P<0.01; Test T de Student.

FIG. 5. Muestra los efectos cardiovasculares sistémicos del compuesto (2) en ratones. A) Medidas telemétricas durante 24 horas de la presión sanguínea arterial media (PAM) tras inyecciones intraperitoneales de 30 mg/kg (n=4) del compuesto (2) o vehículo (n=6) en ratones normales wt. B) Disminución de la frecuencia cardiaca (FC) con 30mg/kg del compuesto (2) en ratones wt. C) PAM después de inyección de compuesto (2) en ratones KCa3.1^{-/-} y comparación con los datos de wt. D) Ratones KCa3.1^{-/-} no disminuyen la frecuencia cardiaca (FC) con el compuesto (2) como pasa en ratones wt. Los datos se presentan como media + SEM; * P<0.05; Test T de Student. E) 3 mg/kg (n=4) produce una menor disminución de la frecuencia cardiaca (FC) y F) 100 mg/kg (n=4) produce una disminución similar como 30 mg/kg.

FIG. 6. Muestra la mejora de actividad física de ratón en el test de zona abierta 1 hora después de la inyección i.p. del compuesto (2) (30 mg/kg). A) aumento de velocidad al correr, B) aumento de la distancia recorrida, C) aumento del número de veces que se produce comportamiento explorativo rampante.

5

EJEMPLOS

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

10

Ejemplo 1: síntesis de los compuestos de fórmula (I) de la invención.

Síntesis de mono- y di-benzoatos: el monobenzoato precursor (1) se obtuvo por reacción de bromuro de bencilo con ácido 3-fluoro-4-hidroxibenzoico. Los dibenzoatos (2), (3), (4), (7), (8), (9) y (10), así como el (6) que no cae dentro de la fórmula (I), se obtuvieron por reacción del correspondiente bis(bromometil) derivado con ácido 3-fluoro-4-hidroxibenzoico. El dibenzoato (5), no incluido en la fórmula (I), se obtuvo por reacción de 1,3-bis(bromometil)benceno con ácido 3-fluoro-4-acetamidobenzoico. El ácido 3-fluoro-4-acetoamidobenzoico se obtuvo por acetilación del ácido 4-amino-3-fluorobenzoico. El 3,4-bis(bromometil)tiofeno se obtuvo por bromación de 3,4-bis(hidroximetil)tiofeno.

20

Síntesis del ácido 4-acetamido-3-fluorobenzoico

Una mezcla del ácido 4-amino-3-fluorobenzoico (233 mg, 1,5 mmol) y anhídrido acético (459 mg, 4,5 mmol) en piridina anhidra (7 ml) se calentó a 60°C durante toda la noche. Entonces, la mezcla se concentró a vacío, se añadió agua (6 mL) y entonces la solución acuosa se acidificó con HCl 2N hasta pH=1. El producto precipitó y se filtró y se secó, dando lugar a 281 mg (95%) del compuesto ácido 4-acetamido-3-fluorobenzoico como un sólido ligeramente parduzco. ¹H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 2.20 (s, 3H), 7.74 (dd, 1H, J = 11.5, J = 1.8), 7.80 (ddd, 1H, J = 8.5, J = 1.8, J = 0.9), 8.20 (dd, 1H, J = 8.1, J = 8.1).

30

Síntesis de 3,4-bis(bromometil)tiofeno

El 3,4-bis-(hidroximetil)tiofeno (475 mg, 3,3 mmol) se trató con una disolución de HBr en ácido acético del 33% w/w (15 mL) a temperatura ambiente durante una hora. Entonces se añadió agua (5 ml) y carbonato potásico sólido en porciones, a 0°C, hasta
 5 un pH de aproximadamente 6. El producto se filtró y se lavó con agua. El producto se purificó por cromatografía en columna de silica gel (eluyente: éter/hexano, 1:20) dando lugar a 651 mg (73%) de 3,4-bis(bromometil)tiofeno. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 4.63 (s, 4H), 7.35 (s, 2H).

10 Síntesis de 3-fluoro-4-hidroxibenzoato de bencilo (1)

Una mezcla de bromuro de bencilo (171 mg 1 mmol), ácido 3-fluoro-4-hidroxibenzoico (156 mg, 1,0 mmol) y NaHCO_3 (101 mg, 1,2 mmol) en DMF anhidra (15 mL) bajo atmósfera de argón se calentó a 105°C durante toda la noche. La mezcla se enfrió, y entonces se añadió disolución saturada de NaHCO_3 (7mL), disolución acuosa
 15 saturada de NaCl (10 mL) y AcOEt (acetato de etilo, 50 mL). Se filtró a través de Celite[®], se decantó y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secaron con MgSO_4 anhidro y se concentraron a presión reducida. Finalmente el crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna de silica gel (eluyente: AcOEt/hexano, 1:3) para obtener 147 mg (60%) de compuesto (1) como
 20 un sólido blanco. M.p. 93–94 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 5.35 (s, 2H), 6.20 (bs, 1H), 7.00-7.07 (m, 1H), 7.32-7.48 (m, 5H), 7.78-7.83 (m, 2H)

Procedimiento general para la síntesis de bis 3-fluoro-4-hidroxibenzoatos a partir de derivados de dibromometilareno o dibromometilheteroareno

25 Una mezcla de los correspondientes derivados dibromados (1,0 mmol), ácido 3-fluoro-4-hidroxibenzoico (343 mg, 2,2 mmol) y NaHCO_3 (210 mg, 2,5 mmol) en DMF anhidra (15 ml) bajo atmósfera de argón se calentó a 105°C durante toda la noche. La mezcla se enfrió, y entonces se añadió disolución saturada de NaHCO_3 (7 mL), disolución acuosa saturada de NaCl (10 mL) y AcOEt (50 mL). Se filtró a través de Celite[®], se
 30 decantó y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secaron con MgSO_4 anhidro y se concentraron a presión reducida. Finalmente el crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna de silica gel (eluyente: AcOEt/hexano, 1:3).

bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato) de 1,3- fenilenbis(metileno) (2)

De acuerdo con el procedimiento general, el compuesto (2) se obtuvo como un sólido blanco con un 38% de rendimiento. M.p. 207–208 °C; ¹H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 5.45 (s, 4H), 6.80-6.90 (m, 2H), 7.35-7.45 (m, 2H), 7.48-7.53 (m, 2H), 7.54-7.60 (m, 4H).

5

bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato) de 1,2- fenilenbis(metileno) (3)

De acuerdo con el procedimiento general, el compuesto (3) se obtuvo como un sólido blanco con un 35% de rendimiento. M.p. 165–166 °C; ¹H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 5.27 (s, 4H), 6.85-6.95 (m, 2H), 7.34-7.35 (m, 3H), 7.46 (bs, , 1H), 7.60-7.70 (m, 4H).

10

bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato) de 1,4- fenilenbis(metileno) (4)

De acuerdo con el procedimiento general, el compuesto (4) se obtuvo como un sólido blanco con un 33% de rendimiento. M.p. 212–213 °C; ¹H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 5.27 (s, 4H), 6.90-6.95 (m, 2H), 7.41 (s, 4H), 7.60-7.70 (m, 4H).

15

bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato de 5-(hidroximetil)-1,3-fenilen)bis(metileno) (6)

De acuerdo con el procedimiento general, el compuesto (6) se obtuvo como un sólido blanco con un 28% de rendimiento. ¹H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 4.63 (s, 2H), 5.31 (s, 4H), 6.90-6.95 (m, 2H), 7.38-7.42 (m, 3H), 7.60-7.70 (m, 4H).

20

2,6-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)piridina (7)

De acuerdo con el procedimiento general, el compuesto (7) se obtuvo como un sólido ligeramente parduzco con un 35% de rendimiento. En este caso el eluyente de la columna de cromatografía fue AcOEt/hexano, 1:1. M.p. 190–191 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ 5.36 (s, 4H), 7.00-7.10 (m, 2H), 7.45 (d, 2H, J = 7.8), 7.65-7.80 (m, 4H), 7.87 (t, 1H, J = 7.8), 10.92 (bs, 2H).

25

3,4-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)furano (8)

De acuerdo con el procedimiento general, el compuesto (8) se obtuvo como un sólido blanco con un 35% de rendimiento. M.p. 199–200 °C; ¹H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 5.26 (s, 4H), 6.80-6.85 (m, 2H), 7.45-7.55 (m, 4H), 7.66 (s, 2H).

30

3,4-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)tiofeno (9)

De acuerdo con el procedimiento general, el compuesto (9) se obtuvo como un sólido blanco con un 33% de rendimiento. M.p. 215–216 °C; ¹H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 5.36 (s, 4H), 6.81-6.86 (m, 2H), 7.51-7.59 (m, 6H).

5

2,5-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)tiofeno (10)

De acuerdo con el procedimiento general, el compuesto (10) se obtuvo como un sólido ligeramente parduzco con un 25% de rendimiento. M.p. 185–186 °C; ¹H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 5.42 (s, 4H), 6.91-6.97 (m, 2H), 7.07 (s, 2H), 7.62-7.70 (m, 4H).

10

Síntesis de bis(4-acetamido-3-fluorobenzoato) de 1,3-fenilenbis(metileno) (5)

Una mezcla de 1,3-bis(bromometil)benceno (132 mg, 0,5 mmol), ácido 4-acetamido-3-fluorobenzoico (217 mg, 1,1 mmol) y K₂CO₃ (173 mg, 1,25 mmol) en DMF anhidra (7ml) se calentó durante toda la noche a 105°C bajo atmósfera de argón. Después la
 15 mezcla se enfrió, y se le añadieron una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (3mL), disolución acuosa saturada de NaCl (5 mL) y AcOEt (25 mL). Se filtró a través de Celite®, se decantó y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (2 x 10 mL). Los extractos orgánicos se secaron con MgSO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida. El
 20 crudo de reacción se recristalizó de metanol y se obtuvo 123 mg (50%) del compuesto (5) como un sólido parduzco. M.p. 190–191 °C; ¹H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 2.14 (s, 6H), 5.36 (s, 4H), 7.42-7.45 (m, 3H), 7.56 (bs, 1H), 7.70-7.80 (m, 4H), 8.23 (dd, 2H, J = 8.1, J = 8.1), 10.03 (bs, 2H).

Ejemplo 2: determinación del efecto bloqueante del canal K_{Ca} de los compuestos de la invención.

25

Modelos celulares usados: Las células hKCa3.1-HEK293, las células hKv1.2-B82, las células rKv1.3-L929, las células hKv7.4-HEK293, las células hERG-HEK293, las células hKCa2.3-COS7, los fibroblastos 3T3 (3T3-L1, ref# CL-173, ATCC, Rockville,
 30 MD), las células de glioblastoma U251, y las células endoteliales primarias de arteria coronaria porcina (PCAEC), se cultivaron en medio de cultivo DMEM suplementado con un 10% de suero fetal bobino y 1% penicilina/estreptomicina (todo ello de la compañía Biochrom KG, Berlín, Alemania). Previamente a la realización de los ensayos “patch-clamp” las células fueron tripsinizadas, sembradas sobre vidrios cubre-

objetos en una disolución de NaCl y empleadas para las medidas electrofisiológicas a lo largo del día.

Se grabaron corrientes de membrana, por los procedimientos “inside-out” y “whole-cell” empleando un amplificador de patch-clamp EPC10-USB (HEKA Electronics, Alemania), rampas de voltaje (-100 a 100 mV en 1 segundo) y software Patchmaster™. En las células se midieron las amplitudes de corrientes de K⁺ hacia el exterior, a 0 mV. Para las medidas de las corrientes de canales hERG se empleó un prepulso a -80 mV (1 segundo), un pulso de despolarización a +30 mV (1 segundo) y un pulso a -40 mV (1 segundo). No se llevó a cabo sustracción de corrientes de fuga durante la adquisición de los datos, aunque durante el análisis se corrigieron corrientes óhmicas inherentes al aparato de hasta 6 nS cuando fue necesario. En los experimentos en el modo estándar “fast whole-cell” sobre los canales KCa, la solución de K⁺ de la pipeta se componía de (en mM): 140 KCl, 1 MgCl₂, 2 EGTA, 1.71 CaCl₂ (1 μM [Ca²⁺]_{libre}) y 5 HEPES (pH ajustado a 7.2 con KOH). Para las medidas de los canales Kv, la solución de la pipeta contenía 100 nM [Ca²⁺]_{libre} (2 mM EGTA, 0.7 mM CaCl₂). La solución del baño de NaCl se componía de (mM): 140 NaCl, 5 KCl, 1 MgSO₄, 1 CaCl₂, 10 glucosa y 10 HEPES (pH ajustado a 7,4 con NaOH). Para el cálculo de los valores de IC₅₀, los puntos se ajustaron a una ecuación “dosis-respuesta”: $y = A2 + (A1-A2)/(1 + (x/x0)^p)$ o a una ecuación de Boltzmann: $y = A2 + (A1-A2)/(1 + \exp((x-x0)/dx))$.

Los datos para los compuestos testados se presentan en las siguientes tablas:

Compuesto	IC ₅₀ , nM	% del control a		
		1 μM	5 μM	10 μM
Comp. (1)		94 ± 1	87 ± 2	NT
Comp. (2)	17 ± 3	4 ± 1	NT	NT
Comp. (3)	6 ± 2	12 ± 2	2 ± 1	NT

Comp. (4)		15 ± 6	NT	NT
Comp. (5)		97 ± 2	94 ± 1	NT
Comp. (6)		83 ± 3	74 ± 11	NT
Comp. (7)		33	17	8
Comp. (8)	577 ± 50	36 ± 4	4 ± 1	NT
Comp. (9)	268 ± 15	22 ± 4	3 ± 1	NT
Comp. (10)	24 ± 3	1 ± 1	NT	NT

NT, no testado; los datos se presentan como media ± SEM, n ≥ 3. Si no se advierte lo contrario, los datos proceden de experimentos en el modo “inside-out” sobre células hKCa3.1-HEK293. * Experimentos en el modo “whole-cell” sobre fibroblastos 3T3-L1.

Tabla 1: Efecto inhibitor de compuestos (2, 3, 4, 8, 9 y 10) sobre los canales KCa3.1.

Compuesto	% del control a		
	100 nM	1 µM	5µM
hKCa2.3*			
Comp. (2)	38 ± 2	21 ± 3	3 ± 1
Comp. (3)	68 ± 4	36 ± 5	11 ± 1
Comp. (4)	71 ± 5	45 ± 12	NT
hKCa2.1			
Comp. (2)	61 ± 4	4 ± 2	NT
rKCa2.2			
Comp. (2)	41 ± 6	10 ± 1	3 ± 1
hKCa1.1			
Comp. (2)	NT	105 ± 10	NT
hKv1.2			
Comp. (2)	NT	94 ± 4	NT

rKv1.3			
Comp. (2)	NT	93 ± 14	NT
hKv7.4			
Comp. (2)	NT	98 ± 7	NT
hERG			
Comp. (2)	NT	99 ± 2	NT
hK_{IR}			
Comp. (2)	NT	102 ± 10	NT

NT, no testado; los datos se presentan como media ± SEM, n ≥ 3. * Datos de experimentos en el modo “inside-out”, el resto de datos procedentes de experimentos en el modo “whole-cell”.

Tabla 2: Resultados de la medida de selectividad.

Según los resultados en la tabla 1 y en las Fig. 1A y B (curvas de concentración-respuesta), se demuestra que los compuestos (2), (3) y (4) inhiben los canales de tipo KCa2 aunque, el compuesto (2) no bloquea una serie de otros canales de potasio no relacionados con KCa2/3. Se puede concluir que el compuesto (2) inhibe el canal humano clonado KCa3.1 con una IC₅₀ de 17 nM y el canal humano clonado KCa2.3 con una IC₅₀ de 2 nM. Como queda demostrado en la Fig. 1C, los efectos bloqueadores a concentraciones nanomolares bajas se revirtieron con el modulador positivo de la apertura/cierre del canal, SKA-31, a 1 μM. Estos efectos opuestos del compuesto (2) y SKA-31 (neutralizando el efecto del otro) indican que el compuesto (2) funciona como modulador negativo de la apertura/cierre del canal.

Ejemplo 3: efecto de los compuestos de la invención sobre la relajación/contracción del músculo liso.

Modelo de miografía in vitro: Para la miografía isométrica sobre anillos de arterias coronarias porcinas los anillos se montaban sobre un transductor de fuerza isométrico (Pioden UF1, Graham Bell House, Canterbury, UK). El baño, conteniendo un tampón de Krebs (37°C; equilibrado con un 95% O₂/ 5% CO₂) consistía de (en mM): NaCl 120, NaHCO₃ 24,5, CaCl₂ 2,4, KCl 4,7, MgSO₄ 1,2, KH₂PO₄ 1 y glucosa 5,6, pH 7,4. Los anillos fueron pre-estirados a una tensión inicial de 1 g (10 mN). Se registraron

cambios en la fuerza empleando un programa Mac Lab System/8e (AD Instruments Inc, Milford, MA, USA) con una frecuencia de muestreo de 0,5 segundos. Para analizar las relajaciones de tipo EDH, el tampón del baño contenía el bloqueador de la NO-sintasa, N ω -nitro-L-arginina (L-NNA, 300 μ M), y el bloqueador de la ciclooxigenasa, indometacina (10 μ M). Los anillos fueron pre-contraídos con el análogo del vasospásmico tromboxano, U46619 (0,2 μ M) en presencia del compuesto (2) o su vehículo, DMSO, seguidos de una relajación con bradiquinina (BK, 1 μ M). Posteriormente, los anillos fueron totalmente contraídos con tampón de KCl (60 mM) durante 10 minutos, seguido de la adición de nitroprusiato de sodio (10 μ M) para producir una relajación independiente del endotelio. Las soluciones stock del compuesto (2), de indometacina, y de U46619, fueron hechas en DMSO, y se añadieron al baño las cantidades correspondientes de estas disoluciones. Otros compuestos estaban disueltos en agua Milli-Q. Para el análisis de los datos se determinaron las relajaciones como porcentaje de cambio de las pre-contracciones de forma relativa al estado totalmente relajado (en ausencia de agentes que causen contracción).

Como demuestran los resultados de las grabaciones de tensión isométrica en anillos de arterias coronarias porcinas mostrados en la Fig 2, el compuesto (2) a 1 μ M aumenta la tensión inducida por 5-HT (1 μ M) en presencia de L-NNA e INDO. Usando este modelo ex vivo de regulación de tono de arteria coronaria, se demuestra que (2) es activo en un sistema complejo de regulación vascular y se demuestra también la capacidad de (2) para aumentar el tono arterial causado por un agonista fisiológico.

Como muestra la Fig. 3, el compuesto (2) a 1 μ M inhibe las relajaciones inducidas por BK en presencia de L-NNA e INDO en anillos pre-contraídos por 5-HT. El efecto es más pronunciado a concentraciones bajas de BK. El vehículo es DMSO.

La Fig. 4 muestra el efecto inhibitor del compuesto (2) a 1 μ M sobre la relajación inducida por BK en anillos fuertemente pre-contraídos con U46619 (0,2 μ M) en presencia de L-NNA e INDO.

En conclusión, se ha demostrado que el compuesto (2) es eficaz como inductor de la vasorrelajación debida a un agonista como bradikina en un modelo ex vivo relevante.

Con esto se demuestra la utilidad de éste y otros compuestos de la invención para reducir una hipermia inducida por un agonista endotelial.

Ejemplo 4: efecto del compuesto (2) sobre la presión sanguínea y frecuencia cardiaca.

Se llevaron a cabo experimentos de telemetría que siguieron las directrices de ARRIVE y fueron aprobados por el Comité Institucional de Uso y Cuidado de los Animales del IACS. En resumen, se implantaron transductores de presión TA11PA-C10 (*Data Sciences International* (DSI), St. Paul, Minnesota, USA) en la arteria carótida izquierda de 4 ratones hembra wt ("wild type", 19.9 ± 0.4 g) y 3 ratones hembra KCa3.1^{-/-} (29.2 ± 2.0 g), bajo anestesia profunda. Durante 10 días se esperó a que los ratones se recuperaran de la intervención y alcanzasen ritmos circadianos normales. Los ratones tenían libre acceso a agua corriente y pienso estándar. Los datos de la telemetría se registraron durante un minuto cada 10 minutos durante 24 horas, y posteriormente se hizo la media de todos ellos. El análisis de los datos se llevó a cabo empleando el software DSI. El compuesto o el vehículo (aceite de cacahuete) se inyectó durante la tercera hora de la fase oscura (la fase de actividad) y se recogieron los datos de la telemetría tras 20 o 30 minutos de la inyección. Para minimizar el estrés y el daño causado por las inyecciones intraperitoneales (i.p.) los ratones se anestesiaron momentáneamente mediante inhalación de isoflurano.

Para inyecciones intraperitoneales, se disolvió la cantidad necesaria de compuesto (2) en aceite de cacahuete caliente (Sigma-Aldrich) para alcanzar dosis de 3, 30 o 100 mg/kg. El volumen de inyección fue de aproximadamente 600 µl.

Como ejemplo de utilidad de compuesto (2) en la manipulación de la regulación cardiovascular sistémica en vivo, se procedió a inyectar el compuesto (2) por vía intraperitoneal (i.p.) en ratones en dosis de 3, 30 y 100 mg/kg. Se consiguió reducir la frecuencia cardiaca (FC) mientras la presión sanguínea se mantuvo constante tal y como se muestra en la Fig. 5. Esto es la respuesta fisiológica y anticipada causada por un compuesto que promueve vasoconstricción periférica en un sistema cardiovascular normal. Esto es indicativo de un aumento de la resistencia total periférica por vasoconstricción arterial periférica y como reflejo, una reducción de frecuencia

cardiaca. El compuesto (2) no tiene efectos secundarios del tipo a convulsiones o sedación.

La presión sanguínea se regula en analogía a la ley de Ohm ($U=R \cdot I$). U es la presión,
5 R es la resistencia periférica (o el diámetro de arterias de resistencia), I es el flujo de
sangre (o lo que propulsa el corazón: $D = VS \times FC$ (VS: volumen sistólico de eyección;
FC: frecuencia cardíaca)). R no se puede registrar directamente y se calcula por
cambios en U y/o D. En el presente caso, si la presión se mantiene estable después
de inyectar compuesto (2) pero la frecuencia cardíaca baja, hay dos posibles
10 explicaciones:

- 1) la resistencia periférica ha aumentado debido a un efecto inhibitor sobre el
endotelio como el mostrado en Fig. 3. La frecuencia cardíaca baja por el reflejo
barorreceptor.
- 2) La duración de los potenciales de acción en células auriculares/ventriculares ha sido
15 prolongada causando un prolongado relleno de los ventrículos llevando a una
frecuencia baja y un aumentado volumen sistólico de eyección y así un propulso total
del corazón no cambiado.

En conclusión, la bradicardia (frecuencia cardíaca baja) observada se corresponde con
20 los resultados previstos según los conocimientos fisiológicos establecidos hoy en día,
y demuestra la utilidad del compuesto (2) para aumentar la resistencia total periférica y
para producir una bradicardia mientras la presión sanguínea se mantiene estable.

Como prueba adicional de funcionamiento selectivo se demostró que el compuesto (2)
25 es activo sólo en la cepa wt (KCa3.1+/+), ratones que tienen el canal KCa3.1, y no en
la cepa KCa3.1-/-, ratones que no tienen el canal, y así se ha demostrado la actividad
específica sobre KCa3.1 en este modelo genético. Como KCa3.1 no es considerado
como canal cardíaco en el sentido de una expresión en tejido muscular cardíaco, esos
experimentos demuestran selectividad del compuesto (2) sobre canales KCa3.1 en
30 vivo.

Ejemplo 5: efecto del compuesto (2) sobre la actividad locomotora física.

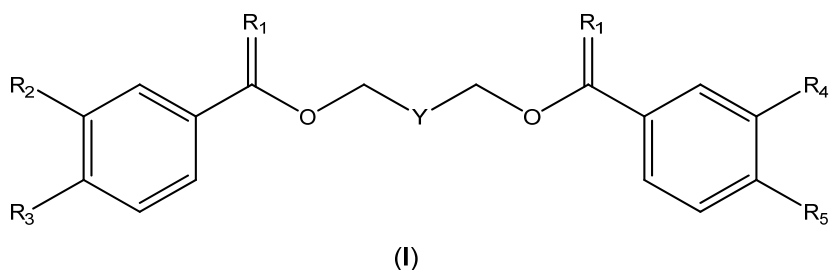
La mejora en la actividad locomotora física sobre los animales inducida por los compuestos de la invención se ha investigado realizando test de “zona abierta”,
5 utilizando una caja cuadrada (45x45x45 cm) no-transparente durante 10 min. El movimiento fue registrado automáticamente con el sistema “SMART video tracking” (Panlab, Barcelona, Spain) conectado a una videocámara (SSC-DC378P, Biosite, Stockholm, Sweden). Se ha analizado automáticamente la velocidad de movimiento y la distancia recorrida. El comportamiento explorativo rampante (capacidad del animal
10 de apoyarse sólo sobre las dos patas traseras) ha sido registrado manualmente y los datos se presentan como número de episodios (n).

Tal y como se muestra en la Fig. 6, el compuesto (2) aumenta la velocidad al correr, la distancia recorrida, y el comportamiento rampante en la zona abierta (una hora
15 después de inyectar i.p. 30 mg/kg de compuesto (2)). Teniendo en cuenta la capacidad de modulación de los canales de KCa3.1 y KCa2 de los compuestos de la invención, tal y como se ha demostrado anteriormente, y la implicación de estos canales en estas respuestas fisiológicas locomotoras, estos datos demuestran la utilidad del compuesto (2) para la mejora de la actividad física espontánea.

20

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I) o cualquiera de sus sales o solvatos:



donde

- Y se selecciona de entre un grupo arilo o heterociclo,
- R_1 se selecciona de entre azufre u oxígeno,
- R_2 se seleccionan de entre H, F, Cl, Br o I,
- R_3 se selecciona de entre H, OH o NHR_6 ,
- R_4 se selecciona de entre F, Cl, Br o I,
- R_5 se selecciona de entre H, OH, NHR_6 o O-alquilo C_1-C_4 y
- R_6 se selecciona de entre H, alquilo C_1-C_4 .

con la condición de que cuando Y es 1,3-fenilo, éste no presenta ningún sustituyente en la posición 5.

2. Compuesto según la reivindicación 1, donde R_1 es oxígeno.

3. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 donde Y se selecciona de entre fenilo, piridilo, tiofenilo, furanilo, pirrolilo o tiazolilo.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde Y se selecciona de entre 1,2-fenilo, 1,3-fenilo o 1,4-fenilo.

5. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde Y se selecciona de entre 3,5-piridilo o 2,6-piridilo.

6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde Y se selecciona de entre 2,5-tiofenilo o 3,4-tiofenilo.
7. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde Y es 3,4-furanilo.
8. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde R_2 es F.
9. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde R_3 es OH.
10. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde R_4 es F.
11. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde R_5 es OH.
12. Compuesto según la reivindicación 1 que se selecciona de la siguiente lista:
 - bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato) de 1,3- fenilenbis(metileno)
 - bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato) de 1,2- fenilenbis(metileno)
 - bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoato) de 1,4- fenilenbis(metileno)
 - 2,6-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)piridina
 - 3,4-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)furano
 - 3,4-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)tiofeno
 - 2,5-bis(3-fluoro-4-hidroxibenzoiloximetil)tiofeno
13. Composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.
14. Anestésico que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.
15. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para la fabricación de un medicamento.
16. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad

- o trastorno que se selecciona de entre hiperemia, hipotensión, taquicardia, insuficiencia cardíaca, debilidad muscular, hiperplasia, hipoexcitabilidad neuronal, dolor, angiogénesis y proliferación tumoral, inflamación crónica del intestino, y enfermedades autoinmunes, periféricas o neurológicas relacionadas con una actividad anormal de macrófagos y células T y B.
- 5

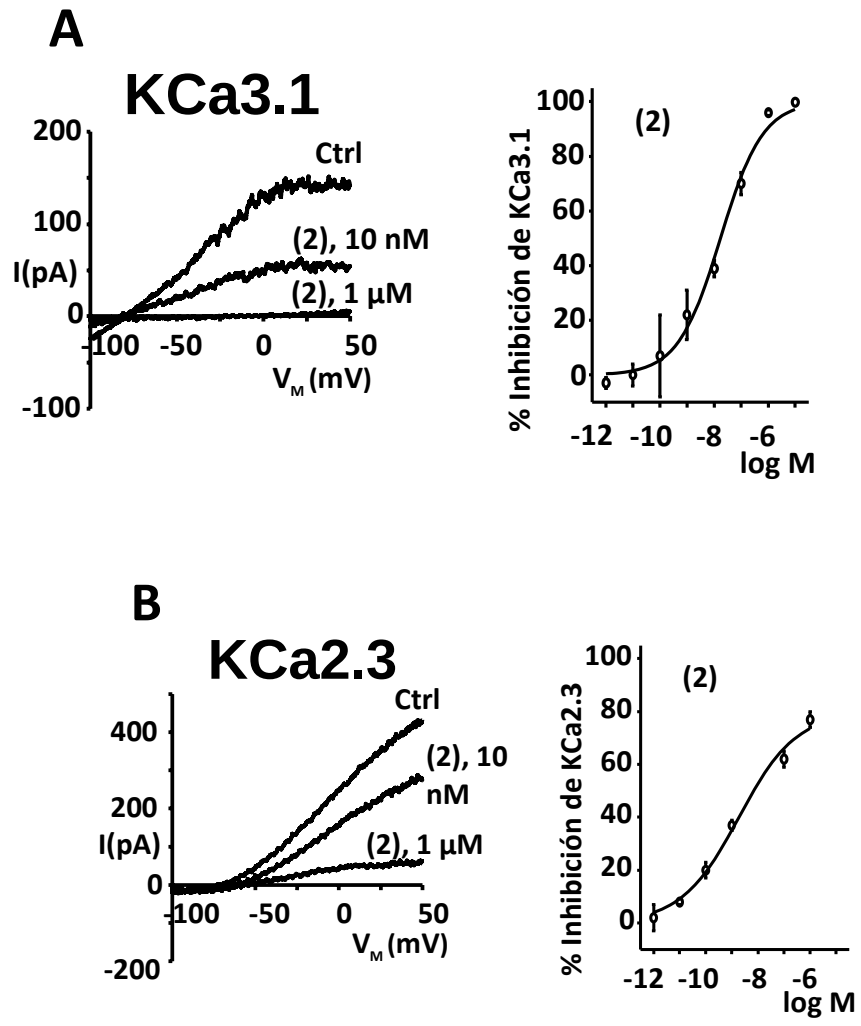


FIG. 1

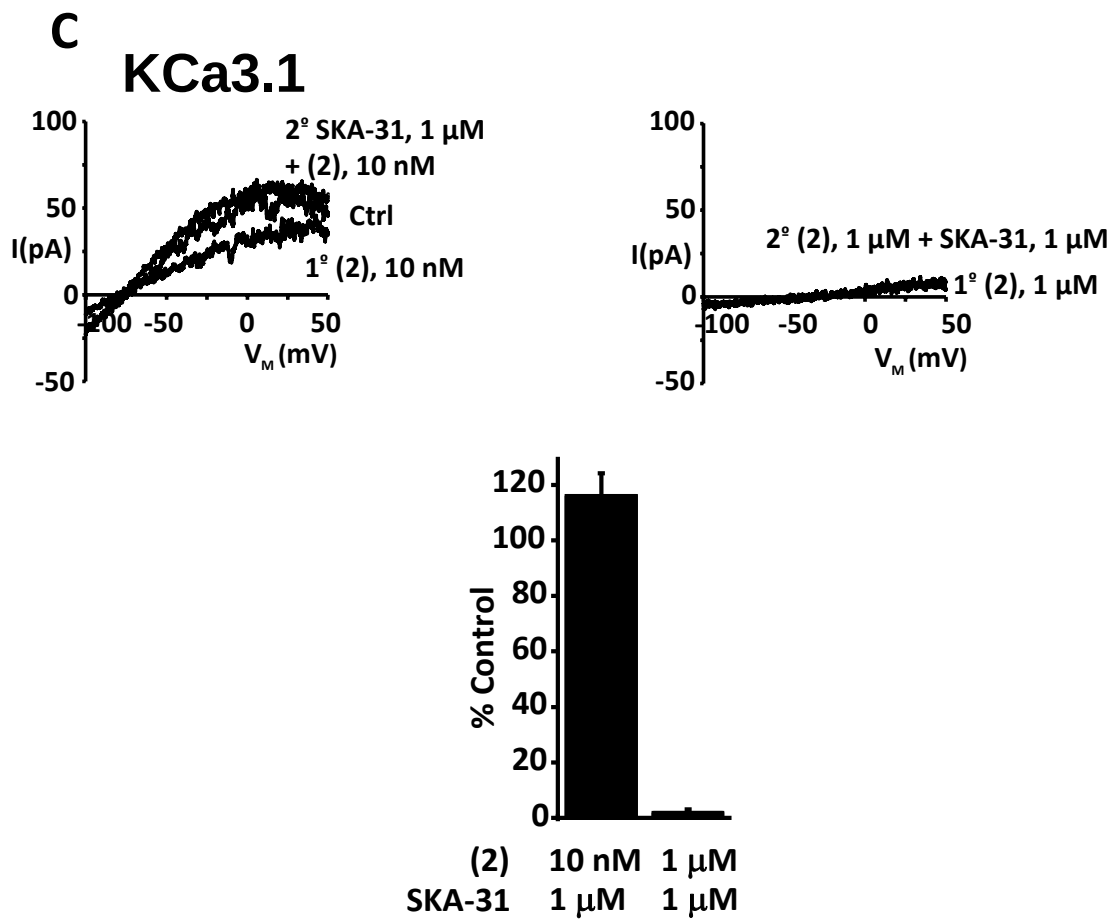


FIG. 1 cont.

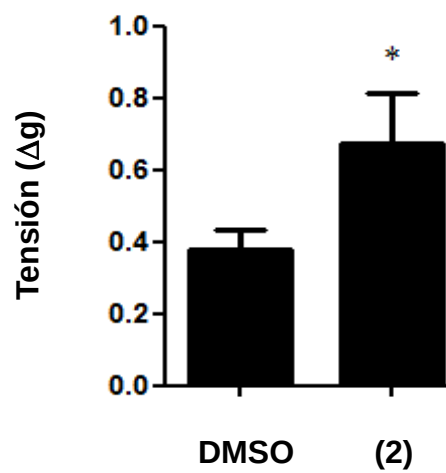


FIG. 2

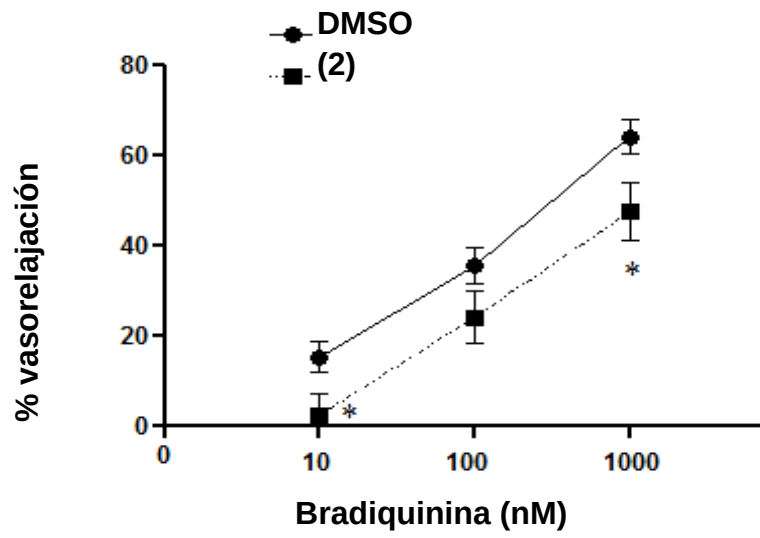


FIG. 3

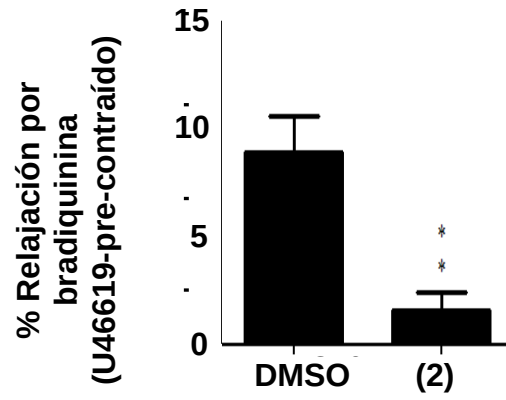


FIG. 4

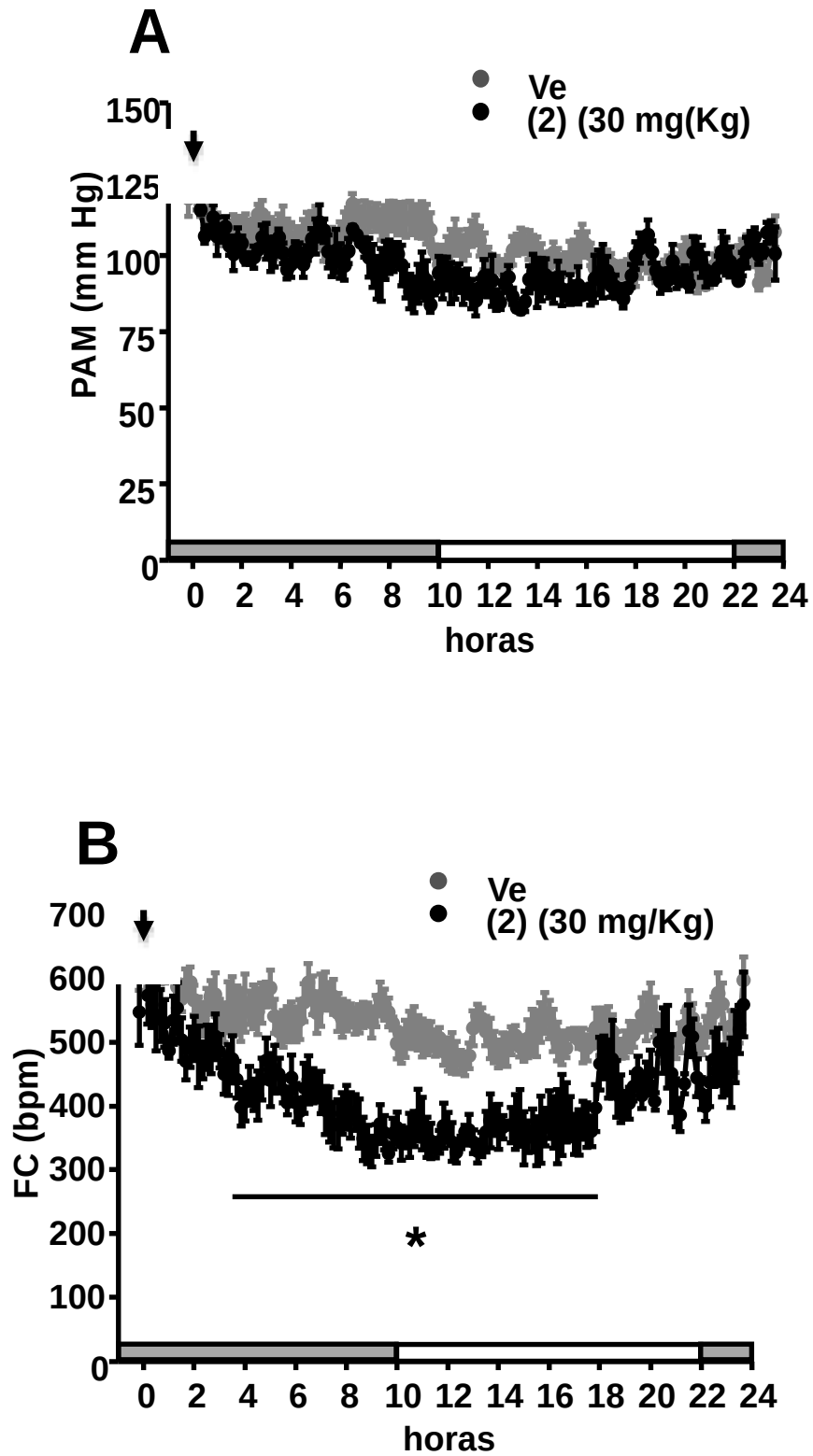


FIG. 5

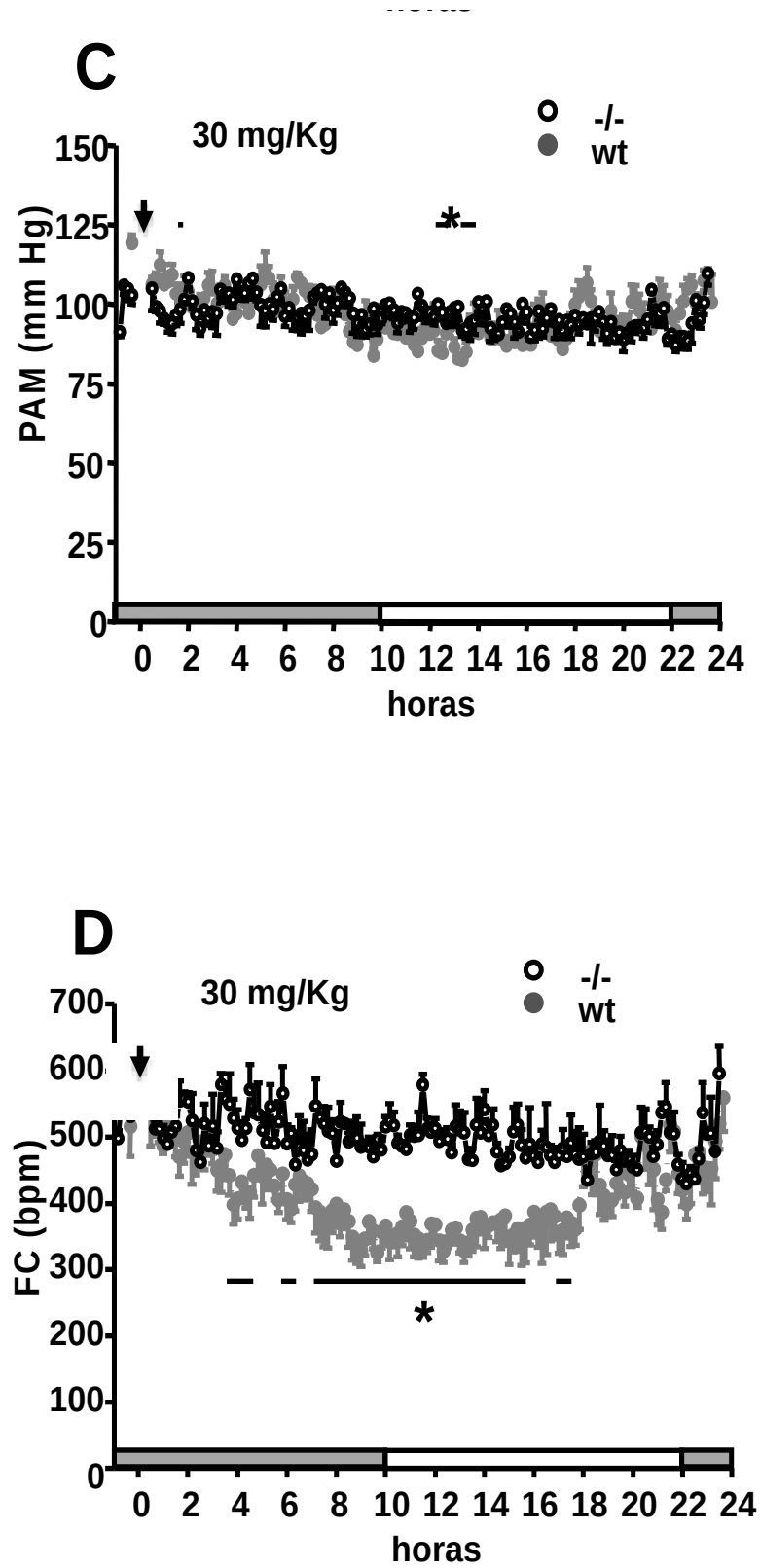


FIG. 5 cont.

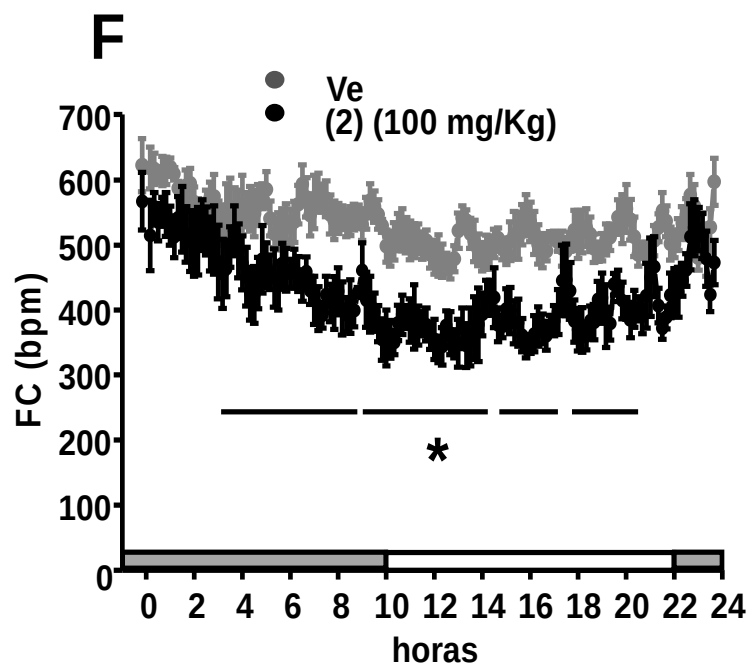
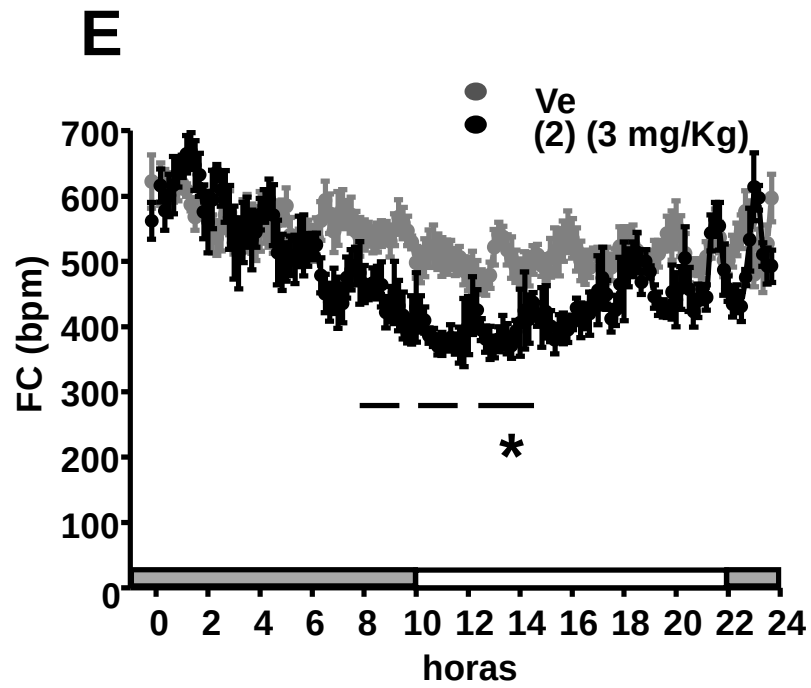


FIG. 5 cont.

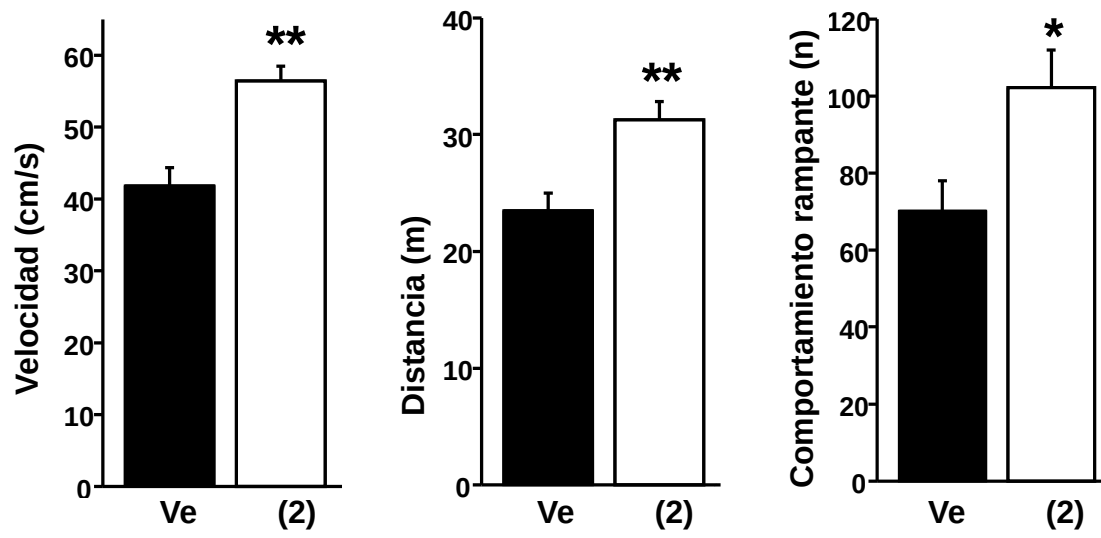


FIG. 6