

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 701 922**

51 Int. Cl.:

**C07D 401/12** (2006.01)  
**A61K 31/5377** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)  
**A61P 31/18** (2006.01)  
**A61P 1/00** (2006.01)  
**A61P 19/02** (2006.01)  
**A61P 25/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2015 PCT/EP2015/066462**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.01.2016 WO16009066**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2015 E 15739271 (3)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2018 EP 3169675**

54 Título: **Derivado de quinolina para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y de SIDA**

30 Prioridad:

**17.07.2014 EP 14306166**

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

**26.02.2019**

73 Titular/es:

**ABIVAX (25.0%)**  
**5 rue de la Baume**  
**75008 Paris, FR;**  
**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE (25.0%);**  
**INSTITUT CURIE (25.0%) y**  
**UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER (25.0%)**

72 Inventor/es:

**TAZI, JAMAL;**  
**NAJMAN, ROMAIN;**  
**MAHUTEAU, FLORENCE;**  
**SCHERRER, DIDIER;**  
**GARCEL, AUDE y**  
**CAMPOS, NOËLIE**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

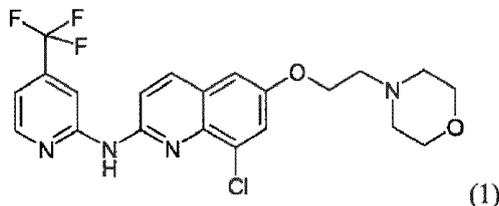
ES 2 701 922 T3

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

Derivado de quinolina para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y de SIDA

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (1)



(1)

5 y a la composición farmacéutica que lo comprende. Este compuesto se puede usar en el tratamiento de la infección retroviral, en particular SIDA o una afección relacionada con SIDA o el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y también en el tratamiento y/o prevención de enfermedad inflamatoria. La invención también se refiere a un procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (1), y también a un compuesto intermedio en dicho procedimiento.

10 El alcance de la invención se define por las reivindicaciones. Cualesquiera referencias en la descripción a métodos de tratamiento se refieren a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia. Una de las estrategias para combatir infecciones retrovirales, y más particularmente SIDA, es usar derivados capaces de inhibir selectivamente ciertos defectos del ajuste. Este es, en particular, el objetivo en el documento WO 2010/143169.

15 De hecho, la solicitud internacional WO 05023255, presentada por el Solicitante, describió el uso de derivados indólicos para tratar enfermedades relacionadas con el proceso de ajuste del ARN premensajero en la célula.

De este modo, se mostró recientemente que ciertos derivados indólicos demuestran ser particularmente eficaces tratando cáncer metastásico y tratando SIDA (BAKKOUR et al., PLoS Pathogens, vol. 3, p. 1530-1539, 2007).

20 Los inventores desarrollaron un nuevo compuesto que es particularmente eficaz en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el proceso de ajuste, pero que, de manera sorprendente, tiene una toxicidad celular que es claramente menor que los derivados indólicos de la técnica anterior. Además, dicho compuesto es capaz de inhibir selectivamente ciertos sucesos de ajuste.

25 En paralelo, la inflamación es una respuesta protectora por el sistema inmune al daño tisular y a la infección. Sin embargo, en algunas circunstancias, la respuesta inflamatoria puede dañar al cuerpo. En la fase aguda, la inflamación se caracteriza por dolor, calor, enrojecimiento, hinchamiento, y pérdida de función. Hay un amplio intervalo de afecciones inflamatorias que afectan a millones de personas a nivel mundial.

Los microARN (miARN), el grupo no codificante más amplio, son una clase de ARN no codificantes de alrededor de 22 nt que inhiben la expresión génica a través de la unión a la Región No Traducida (UTR) de transcritos de ARNm diana (Lai et al., Nature Genetics, vol. 30, n° 4, p. 363-364, 2002; Bartel et al., Cell, vol. 136, n° 2, p. 215-233, 2009).

30 Los genes de miARN representan alrededor de 1-2% de los genomas eucariotas conocidos. Las predicciones sugieren que cada miARN pueden seleccionar como dianas a más de 200 transcritos, y que un único ARNm puede estar regulado por múltiples miARN (LINDOW, DNA Cell Biol., vol. 26(5), p. 339-351, 2007). Los miARN son generados a partir de transcritos con forma de horquilla de pelo endógenos, y actúan mediante apareamiento de bases con los ARNm diana, lo que conduce a la escisión o represión traduccional del ARNm, dependiendo del grado de apareamiento de bases. Dos sucesos de procesamiento conducen a la formación de miARN maduro: en primer lugar, los transcritos de miARN nacientes (pri-miARN) se procesan en precursores de 70 nucleótidos (pre-miARN), que son exportados desde el núcleo y se escinden en el citoplasma para generar miARN maduros cortos (alrededor de 22 nucleótidos de longitud) (LEE, EMBO J., vol. 21, p. 4663-4670, 2002). Los miARN pueden estar situados inter- o intragénicamente. Cuando están localizados intergénicamente, su expresión se coordina con otros miARN como un agrupamiento (Altuvia et al., Nucleic Acids Research, vol. 33, n° 8, p. 2697-2706, 2005, Ozsolak et al., Genes and Development, vol. 22, n° 22, p. 3172-3183, 2008). Cuando están situados intragénicamente, a saber, situados en un gen que codifica una proteína (casi exclusivamente en intrones), a menudo son expresados a partir de la misma hebra que su gen hospedante (Liu et al., Cell Research, vol. 18, n° 10, p. 985-996, 2008, Kim et al., EMBO Journal, vol. 26, n° 3, p. 775-783, 2007) y en niveles correlacionados (Baskerville et al., RNA, vol. 11, n° 3, p. 241-247, 2005).

45 miR-124 se clonó inicialmente en ratón. El precursor de miR-124 humano (o miRN-124 o miARN-124 o micro ARN 124) se clonó a partir de células madre embrionarias. Hasta ahora se han identificado 9 haplotipos de precursores de miR-124 (Guo et al., PLoS ONE, 2009, 4(11):e7944), de los cuales 3 están presentes en los hsa-miR-124-1, hsa-miR-124-2 y hsa-miR-124-3 humanos. (Respectivamente SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 3).

50 El precursor de microARN miR-124 es una molécula de ARN no codificante pequeña. Los microARN de ~21 nucleótidos maduros se procesan a partir de secuencias precursoras de horquilla mediante la enzima Dicer. Las

secuencias maduras son SEQ ID NO: 4 para miR-124-3p y SEQ ID NO: 5 para miR-124-5p.

Ahora se ha mostrado que la sobreexpresión de miR-124 desactiva macrófagos inflamatorios y los convierte en células similares a microglías. Se cree que miR-124 inhibe la activación de macrófagos al seleccionar como diana a CEBP $\alpha$ , un factor de transcripción responsable de la diferenciación de células de estirpe mieloide. La inyección intravenosa de liposomas que contienen miR-124 suprime notablemente los síntomas clínicos de EAE, e inhibe la infiltración de células T encefalitogénicas y de macrófagos inflamatorios en el SNC.

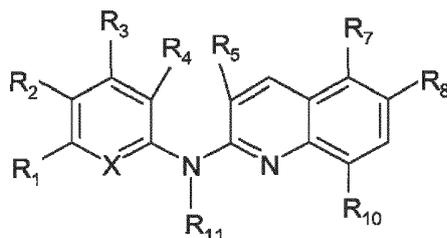
De hecho, Ponomarev et al. ("microRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP- $\alpha$ -PU.1 pathway"; Nature Medicine (2011); 17:1: 64-71) sugieren que miR-124 podría desempeñar un papel como un regulador clave de la quiescencia de las microglías y como un modulador de la activación de monocitos y macrófagos. En base al modelo de Encefalomiелitis Autoinmune Experimental (EAE), este estudio sugiere que el patrón de expresión de miR-124 está modulado (ya sea aumentado o disminuido, dependiendo del tipo celular) en ratones con EAE.

El documento WO 2010/151755 también enseña la administración de miR-124 para tratar una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central (SNC).

Sun et al. ("microRNA-124 mediates the cholinergic anti-inflammatory action through inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines"; Cell Research (2013); 23:1270-1283) también enseñan que miR-124 podría mediar una acción antiinflamatoria colinérgica a través de la selección de STAT3 y TACE como dianas.

El documento WO 2004/007461 describe derivados de 8-hidroxiquinolina para tratar esclerosis múltiple y enfermedad inflamatoria del intestino.

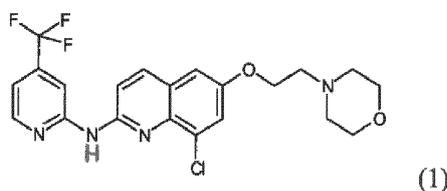
Por otro lado, el documento WO 2012/080953 describe compuestos de fórmula (I)



Dichos compuestos son más particularmente útiles para tratar SIDA. De hecho, se describe que dichos compuestos son útiles en el tratamiento de enfermedades que resultan de cambios en procesos de ajuste, lo que puede constituir una estrategia en el tratamiento de SIDA.

En el marco de la presente invención, el término "paciente" se puede extender a seres humanos o a mamíferos, tales como gatos o perros.

Según un primer aspecto, la invención se refiere al compuesto de fórmula (1):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Dicho compuesto puede existir en forma de una base o una sal de adición con un ácido, particularmente un ácido farmacéuticamente aceptable.

Las sales de adición de ácidos adecuadas fisiológicamente aceptables del compuesto de fórmula (1) incluyen hidrobromuro, tartrato, citrato, trifluoroacetato, ascorbato, hidrocloreuro, tartrato, triflato, maleato, mesilato, formiato, acetato y fumarato.

El compuesto de fórmula (1) y o sus sales pueden formar solvatos o hidratos, y la invención incluye todos los citados solvatos e hidratos.

Los términos "hidratos" y "solvatos" simplemente significan que el compuesto de fórmula (1) según la invención puede estar en forma de un hidrato o solvato, es decir, combinado o asociado con una o más moléculas de agua o de disolvente.

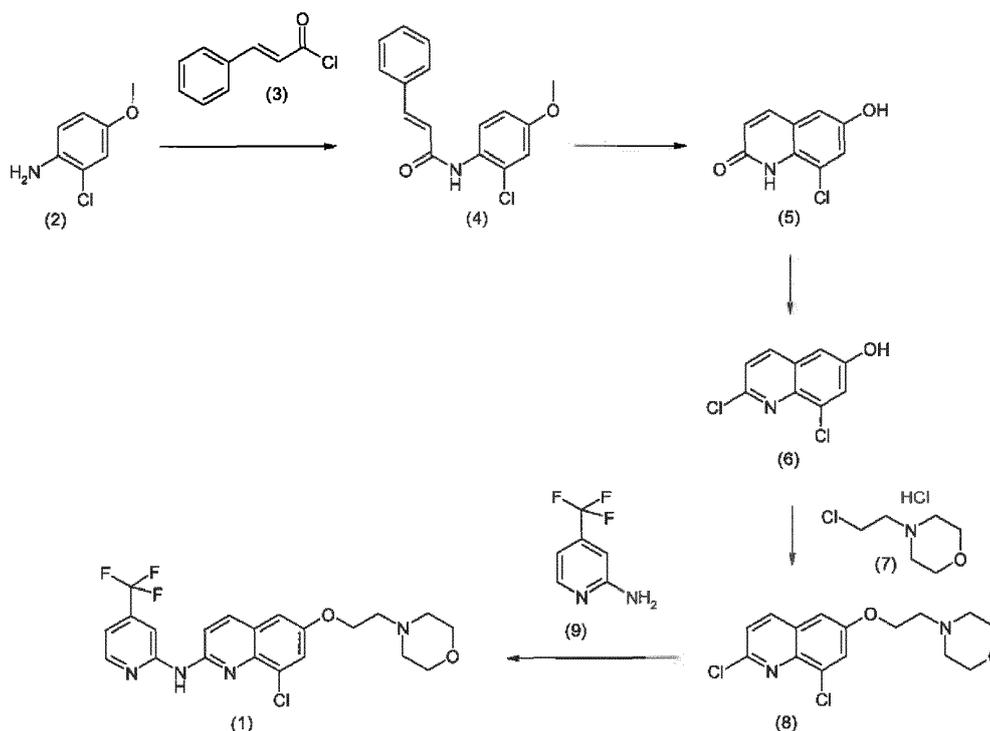
El compuesto de fórmula (1) tiene el siguiente nombre químico: 8-cloro-6-(2-morfolinoetoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina.

Según otro aspecto, una materia objeto de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (1) o sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso como un medicamento.

- 5 Según otro de sus objetos, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (1) o sus sales farmacéuticamente aceptables, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, y al medicamento que comprende el compuesto de fórmula (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Este compuesto se puede usar en el tratamiento de una infección retroviral, SIDA, una afección relacionada con SIDA, o VIH, y también en el tratamiento y/o prevención de enfermedad inflamatoria.

- 10 El compuesto de fórmula (1), que es adecuado para la invención, se puede preparar según el Esquema I a continuación:



- 15 El compuesto (2), que está comercialmente disponible, se puede colocar en una mezcla de acetona y agua en presencia de una base inorgánica, tal como  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  o  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , en una relación molar que oscila de 1 a 4, por ejemplo 3. A  $0^\circ\text{C}$ , el compuesto (3), que se puede obtener según métodos de preparación de acuerdo con el conocimiento normal de la persona experta en la técnica, se puede añadir entonces en una relación molar que oscila de 1 a 1,5, por ejemplo 1, con respecto al compuesto (2). Se puede dejar que la mezcla de reacción se caliente hasta la temperatura ambiente, y se puede agitar durante un tiempo que oscila de 2 horas a 24 horas, por ejemplo durante 20 horas. El precipitado resultante se puede filtrar, enjuagar con agua, y secar a presión reducida en un secador, para dar el compuesto (4).

- 20 El compuesto (4) se puede colocar en un disolvente aprótico tal como clorobenceno en presencia de tricloruro de aluminio en una relación molar que oscila de 5 a 10, por ejemplo 6. La mezcla de reacción se puede calentar entonces a una temperatura que oscila de 100 a  $150^\circ\text{C}$ , por ejemplo a  $130^\circ\text{C}$ , y se puede agitar durante un tiempo que oscila de 1 a 5 horas, por ejemplo durante 4 horas, bajo una atmósfera inerte de gas, por ejemplo argón. Al enfriar hasta la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se puede verter sobre una mezcla de hielo/agua. El precipitado resultante se puede filtrar, se puede enjuagar con agua y se puede secar a presión reducida en un secador para dar el compuesto (5).

- 25 El compuesto (5) se puede colocar en  $\text{POCl}_3$  como el disolvente, y la mezcla de reacción se puede calentar entonces a una temperatura que oscila de 100 a  $120^\circ\text{C}$ , por ejemplo a  $110^\circ\text{C}$ , y se puede agitar durante un tiempo que oscila de 1 a 5 horas, por ejemplo durante 4 horas. Al enfriar hasta la temperatura ambiente, se puede añadir lentamente agua a la mezcla de reacción. El precipitado resultante se puede filtrar entonces, se puede lavar con agua y se puede secar a presión reducida en un secador para producir el compuesto (6).

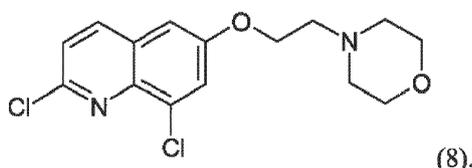
El compuesto (6) se puede colocar en un disolvente polar anhidro tal como *N,N*-dimetilformamida anhidra en

5 presencia de KI en una relación molar que oscila de 1 a 2, por ejemplo 1, y en presencia de una base inorgánica tal como carbonato de cesio en una relación molar que oscila de 1 a 2, por ejemplo 1, con respecto al compuesto (6). El compuesto (7) se puede añadir entonces en una relación molar que oscila de 1 a 1,5, por ejemplo 1, con respecto al compuesto (6). La mezcla de reacción se puede calentar a una temperatura que oscila de 70 a 110°C, por ejemplo 90°C, y se puede agitar durante un tiempo que oscila de 7 horas a 24 horas, por ejemplo 20 horas. Al enfriar hasta la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se puede concentrar a presión reducida, y el residuo resultante se puede diluir con un disolvente orgánico tal como acetato de etilo. La fase orgánica se puede lavar entonces con una disolución acuosa saturada de salmuera, se puede secar sobre MgSO<sub>4</sub>, se puede filtrar y se puede concentrar a presión reducida. Las fases orgánicas se pueden reunir entonces, se pueden lavar con una disolución acuosa saturada de salmuera, se pueden secar sobre MgSO<sub>4</sub>, se pueden filtrar y se pueden concentrar a presión reducida para dar el compuesto (8).

15 El compuesto (8) se puede colocar en un disolvente prótico tal como *t*-BuOH. Entonces se puede añadir el compuesto (9) en una relación molar que oscila de 1 a 2, por ejemplo 1, con respecto al compuesto (8), en presencia de una base inorgánica, tal como Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> o K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, en una relación molar que oscila de 2 a 5, por ejemplo 2,8, en presencia de una difosfina, tal como Xantphos (4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno) o X-Phos (2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo) en una cantidad que oscila de 2% en moles a 10% en moles con respecto a la cantidad total de compuesto (8), y en presencia de un catalizador, tal como Pd(OAc)<sub>2</sub> o Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, en una cantidad que oscila de 2% en moles a 10% en moles con respecto a la cantidad total del compuesto (8). La mezcla de reacción se puede calentar en un reactor de microondas a una temperatura que oscila de 90 a 150°C, por ejemplo a 120°C, durante un tiempo que oscila de 30 minutos a 100 minutos, por ejemplo 30 minutos. La mezcla de reacción se puede concentrar a presión reducida, y el residuo se puede diluir con un disolvente orgánico tal como acetato de etilo. La fase orgánica se puede lavar con agua, se decanta, se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra a presión reducida para dar el compuesto (1).

25 Por lo tanto, la invención también se refiere al procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (1), que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de fórmula (8) con un compuesto de fórmula (9) como se define anteriormente, en presencia de una base inorgánica tal como una base de carbonato (por ejemplo cesio, potasio o sodio) o una base de terc-butóxido (por ejemplo, cesio, potasio o sodio), en presencia de un catalizador, preferiblemente un catalizador de paladio, y preferiblemente en presencia de un ligando tal como un ligando de fosfina o un ligando derivado de ferroceno, por ejemplo un ligando de fosfina bidentado, opcionalmente con calentamiento a una temperatura que oscila de 90 a 150°C.

30 La invención también se extiende al compuesto de fórmula (8), que es un compuesto intermedio:



#### Infeción retroviral y SIDA

35 Los virus, en particular de la familia retroviral, son una de las causas principales de enfermedades alrededor del mundo. Dentro de la familia retroviral se pueden distinguir tres subfamilias: los oncovirus, los lentivirus, y los espumavirus.

40 Los oncovirus se denominan de este modo debido a que se pueden asociar con cánceres e infecciones malignas. Se pueden mencionar, por ejemplo, los virus leucemiogénicos tales como el virus de la leucemia aviar (ALV), el virus de la leucemia murina (MULV), también denominado virus de Moloney, el virus de la leucemia de Abelson, el virus de tumor mamario murino, el virus del mono Mason-Pfizer (o MPMV), el virus de la leucemia felina (FELV), los virus de las leucemias humanas tales como HTLV1 (también denominado HTLV-I) y HTLV2 (también denominado HTLV-II), el virus de la leucemia de simio o STLV, el virus de la leucemia bovina o BLV, los oncovirus de tipo D de primates, los oncovirus de tipo B que son inductores de tumores mamaros, o los oncovirus que causan un cáncer rápido (tal como el virus del sarcoma de Rous o RSV).

45 Aunque todavía se usa habitualmente el término oncovirus, también se pueden utilizar otros términos, tales como alfarretrovirus para el virus de la leucemia aviar y el virus del sarcoma de Rous; betarretrovirus para el virus de tumor mamario de ratón; gammarretrovirus para el virus de la leucemia murina y el virus de la leucemia felina; deltarretrovirus para el virus de la leucemia bovina y el virus linfotrópico T humano; y epsilonretrovirus para el virus del sarcoma dérmico de Walleye.

50 Los espumavirus manifiestan una especificidad bastante baja por un tipo celular dado o una especie dada, y algunas veces están asociados con fenómenos inmunosupresivos; este es el caso, por ejemplo, para el virus espumoso del simio (o SFV), también denominado virus del simio chimpancé, el virus espumoso humano (o HFV), el virus sincitial bovino (o BSV), el virus sincitial felino (FSV), y el virus de la inmunodeficiencia felina.

Los lentivirus, tales como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH, también conocido como HTLV-III o LAV para adenovirus linfotrópico, y que se puede distinguir en HIV-1 y HIV-2), se denominan así debido a que son responsables de afecciones patológicas que progresan lentamente que muy frecuentemente implican fenómenos inmunosupresivos, incluyendo SIDA. Entre los lentivirus, también se pueden citar el virus de visna/maedi (o MVV/Visna), el virus de la anemia infecciosa equina (EIAV), el virus de la artritis-encefalitis caprina (CAEV), el virus de la inmunodeficiencia del simio (SIV). Ya se conocen ciertos compuestos de derivados indólicos, tales como derivados de elipticina y derivados de aza-elipticina, como moléculas intercalantes para corregir disfunciones en la expresión génica, principalmente en la replicación del ADN. Se han descrito más específicamente para tratar enfermedades como cáncer, leucemia o SIDA (véanse, en particular, las patentes FR 2627493, FR 2645861, FR 2436786).

Según la invención, "VIH" incluye tanto VIH-1 como VIH-2, y preferiblemente VIH-1.

En vista de lo anterior, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (1) para uso en el tratamiento de infección retroviral, y en particular en el tratamiento de SIDA, una afección relacionada con SIDA, o VIH.

Entre los retrovirus, se pueden citar los siguientes: virus de visna/maedi o MVV/visna, virus de la anemia infecciosa equina o EIAV, virus de la artritis-encefalitis caprina o CAEV, virus de la inmunodeficiencia del simio o SIV, virus de la leucemia aviar o ALV, virus de la leucemia murina, también denominado virus de Moloney o MULV, virus de la leucemia de Abelson, virus del tumor mamario murino, virus del mono Mason-Pfizer o MPMV, virus de la leucemia felina FELV, virus de la leucemia humana HTLV-I, virus de la leucemia humana HTLV-II, virus de la leucemia del simio o STLV, virus de la leucemia bovina o BLV, oncovirus de tipo D de primates, oncovirus de tipo B, virus del sarcoma de Rous o RSV, virus espumoso del simio o SFV o virus del simio chimpancé, virus espumoso humano, y virus de la inmunodeficiencia felina, el virus espumoso humano o HFV, virus sincitial bovino o BSV, virus sincitial felino FSV, el virus de la inmunodeficiencia felina, el virus de la leucosis aviar, el virus del sarcoma dérmico de Walleye, linfoma de células T, ATL agudo, ATL linfomatoso, ATL crónico, ATL indolente, enfermedades neurológicas, paraparesia espástica tropical o mielopatía asociada a HTLV, enfermedades inflamatorias y autoinmunes tales como uveítis, dermatitis, neumonía, artritis reumatoide, y polimiositis, enfermedades hematológicas y dermatológicas, enfermedades pulmonares, enfermedades cerebrales, y/o inmunodeficiencia.

La invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (1) para la preparación de una composición, tal como un medicamento, para tratar una infección retroviral, y más particularmente SIDA, una afección relacionada con SIDA, o VIH.

Según un aspecto, la presente invención se refiere a un método que consiste en poner en contacto una célula que tiene una infección retroviral con un compuesto de fórmula (1).

En todavía otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para tratar una infección retroviral o una enfermedad provocada por una infección retroviral, que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición farmacéutica a un paciente que lo necesite, en el que la composición farmacéutica incluye al menos un compuesto de fórmula (1), y en el que en particular la infección retroviral es VIH, y en el que en particular la enfermedad causada por la infección retroviral es SIDA, una afección relacionada con SIDA, o VIH.

#### Enfermedades inflamatorias

Las enfermedades inflamatorias incluyen un amplio intervalo de afecciones que incluyen enfermedad inflamatoria asociada con una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tubo digestivo, y una enfermedad inflamatoria de la piel. Entre ellas, son de particular interés la enfermedad inflamatoria del intestino, la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple.

La enfermedad inflamatoria del intestino (IBD) es una enfermedad multifactorial compleja (Perše y Cerar, 2012). Habitualmente se denomina colitis ulcerosa (UC) y enfermedad de Crohn (CD), las dos afecciones crónicas que implican inflamación del intestino. IBD es común en países desarrollados, con hasta 1 en 200 individuos de la región noreuropea afectado por estas enfermedades. Los pacientes con IBD presentan varios problemas físicamente desafiantes a los médicos. La colitis inducida por DSS está asociada con el aumento de diferentes citocinas proinflamatorias, incluyendo TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$ . Recientemente, se ha mostrado que miR-124 está desregulado específicamente en pacientes pediátricos con UC activo, conduciendo a mayores niveles de la expresión del transductor y activador de la transcripción 3 (STAT3) y a la activación transcripcional de sus dianas aguas abajo, entre las cuales están las citocinas proinflamatorias (Koukos et al.; Gastroenterology; 145(4):842-52: 2013). Sin embargo, a pesar de los avances recientes, todavía existe la necesidad de una terapia segura, bien tolerada, con un comienzo rápido, y una mayor capacidad para mantener la remisión a largo plazo.

La artritis reumatoide (RA) es la enfermedad autoinmune más frecuente, con una prevalencia de alrededor de 0,3 a 1% de la población mundial, y a menudo está asociada con una movilidad reducida, mayor dependencia social y discapacidad para el trabajo. RA es una enfermedad inflamatoria sistémica que afecta al tejido que forra las articulaciones, denominado sinovio. El tejido sinovial reumatoide se caracteriza por hiperproliferación de sinoviocitos similares a fibroblastos (FLS) en la capa del forro intimal, y por la infiltración por debajo del forro por macrófagos,

5 células T y B, y otras células inflamatorias que promueven la inflamación y la destrucción de hueso y cartílago. La expresión intraarticular y sistémica de citocinas proinflamatorias, en particular el factor alfa de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ), interleucina-1 (IL-1) y -6 (IL-6), que son producidas principalmente por macrófagos sinoviales, desempeña un papel crucial en la patogénesis de RA, por ejemplo contribuyendo a la hiperproliferación de FLS de RA. Los  
 10 pacientes con RA son tratados en general con un grupo de fármacos moleculares pequeños denominados fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARD). Los DMARD suprimen en cierto modo los sistemas inmune y/o inflamatorio hiperactivos del cuerpo, ralentizando de ese modo la progresión de la enfermedad. Los pacientes con RA que no responden a los DMARD son tratados con agentes biológicos tales como antagonistas del factor de necrosis tumoral (TNF). Sin embargo, incluso aunque los antagonistas de TNF son eficaces en alrededor de dos tercios de los pacientes, los pacientes respondedores frecuentemente se hacen insensibles en cinco años. Por lo tanto, se requieren tratamientos alternativos. Especialmente, hay un interés particular por nuevos enfoques terapéuticos diseñados para pacientes con RA en las etapas tempranas, antes de que la enfermedad se haga crónica.

15 La esclerosis múltiple (MS) es una enfermedad inflamatoria autoinmune, desmielinizante del sistema nervioso central, que destruye mielina, oligodendrocitos, y axones. MS se caracteriza por múltiples focos de inflamación e infiltración de macrófagos y células T encefalitogénicas en el sistema nervioso central. Se encuentran microglías por todo el sistema nervioso central, y participan en el comienzo y progresión de respuestas inflamatorias del SNC. Los microglías, cuando son activados, dañan enormemente a la función del SNC a través de su producción de neurotoxinas, células inflamatorias (proteína 10 inflamatoria, proteína 1 inflamatoria de macrófagos, proteína 2  
 20 inflamatoria de macrófagos, ligando 19 de quimiocinas C-C, proteína 1 quimioattractora de monocitos, proteína 2 quimioattractora de monocitos), y células inmunes que producen anticuerpos. Los microglías dirigen respuestas inflamatorias que pueden dar como resultado que el cerebro y la médula espinal se vean infiltradas con células inmunes frente a invasores extraños así como células T que destruyen a las proteínas de mielina. Los macrófagos periféricos aparecen en el SNC durante la inflamación, y estas células tienen un fenotipo muy activado, estimulan eficientemente la expansión de células T encefalitogénicas, y se piensa que contribuyen a la destrucción del tejido neuronal.

Según la invención, una "inflamación" se caracteriza por dolor, calor, enrojecimiento e hinchazón, y puede resultar de infección, irritación, o lesión.

30 De este modo, una "enfermedad inflamatoria" se refiere a un grupo de enfermedades y/o trastornos que están causados por una inflamación excesiva o desregulada.

Según la invención, "tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria" se puede referir al tratamiento y/o prevención de una enfermedad inflamatoria, o a la propia inflamación, que puede aparecer junto con dicha enfermedad inflamatoria en un individuo.

35 De este modo, un tratamiento y/o prevención de una enfermedad inflamatoria también incluye un tratamiento y/o prevención de la inflamación como tal.

Según la invención, "tratar y/o prevenir" una enfermedad inflamatoria incluye tratar, reducir la probabilidad de desarrollar, o retrasar la aparición de dicha enfermedad inflamatoria.

Según la invención, un "individuo" se puede referir a un ser humano o a un mamífero no humano, y preferiblemente a un ser humano.

40 De manera no limitativa, las enfermedades inflamatorias incluyen: una enfermedad inflamatoria asociada con una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tubo digestivo, enfermedades inflamatorias de la piel y otras enfermedades inflamatorias relacionadas con células epiteliales, tales como bronquitis, inflamación asociada con cáncer, tal como carcinoma de colon, inflamación asociada con irritación, e inflamación asociada con  
 45 lesión.

De este modo, una enfermedad inflamatoria se puede seleccionar de la lista que consiste en: una enfermedad inflamatoria asociada con una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tubo digestivo, enfermedades inflamatorias de la piel y otras enfermedades inflamatorias relacionadas con células epiteliales,  
 50 inflamación asociada con cáncer, inflamación asociada con irritación, e inflamación asociada con lesión.

En particular, una enfermedad inflamatoria se selecciona de la lista que consiste en: enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, esclerosis múltiple, osteoartritis, espondilitis anquilosante, psoriasis, síndrome de Sjogren, bronquitis, y carcinoma de colon.

Más particularmente, una enfermedad inflamatoria se selecciona de la lista que consiste en: enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, esclerosis múltiple, osteoartritis, espondilitis anquilosante, y psoriasis.  
 55

Preferiblemente, una enfermedad inflamatoria según la invención incluye: enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, artritis reumatoide, y esclerosis múltiple.

Incluso más preferiblemente, una enfermedad inflamatoria según la invención incluye: enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide, y esclerosis múltiple.

- 5 En vista de lo anterior, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (1) para uso en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad inflamatoria, que engloba inflamación como tal, e inflamación asociada con una enfermedad inflamatoria.

De este modo, la invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (1) para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria, que engloba inflamación como tal, e inflamación asociada con una enfermedad inflamatoria.

La invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (1) para la preparación de una composición, tal como un medicamento, para tratar y/o prevenir inflamación, que engloba inflamación como tal, e inflamación asociada con una enfermedad inflamatoria.

Según un aspecto, la presente invención se refiere a un método que consiste en poner en contacto una célula que tiene una inflamación con un compuesto de fórmula (1).

La invención también se refiere a un método para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria, que incluye inflamación como tal, e inflamación asociada con dicha enfermedad inflamatoria, y que comprende una etapa de administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (1) a un paciente que lo necesite.

Los siguientes ejemplos se proporcionan como ilustraciones de la presente invención.

#### 20 **Ejemplo 1: Síntesis del compuesto (1)**

Se colocó 2-cloro-4-metoxianilina (**2**) (2,3 ml, 18,0 mmoles, 1 eq.) en agua (13 ml) en presencia de  $K_2CO_3$  (7,5 g, 54,0 mmoles, 3 eq.). Se añadió entonces una disolución de cloruro de (2E)-3-fenilprop-2-enoilo (**3**) (3 g, 18,0 mmoles, 1 eq.) en acetona (18 ml), a 0°C. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta la temperatura ambiente, y se agitó durante 20 horas. El precipitado resultante se filtró, se enjuagó con agua y se secó a presión reducida en un secador para producir (2E)-N-(2-cloro-4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-enamida (**4**) (3,6 g, 69%).

RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8,37 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 7,77 (d,  $J = 15,5$  Hz, 1H), 7,62 - 7,55 (m, 3H), 7,43 - 7,38 (m, 3H), 6,97 (d,  $J = 2,8$  Hz, 1H), 6,88 (dd,  $J = 9,0, 2,8$  Hz, 1H), 6,59 (d,  $J = 15,5$  Hz, 1H), 3,81 (s, 3H).

A una suspensión de (2E)-N-(2-cloro-4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-enamida (**4**) (3,6 g, 12,5 mmoles, 1 eq.) en clorobenceno (11,2 ml) se añadió tricloruro de aluminio (10 g, 75,1 mmoles, 6 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 130°C durante 4 horas en una atmósfera inerte de argón. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió sobre una mezcla de hielo/agua. El precipitado resultante se filtró, se enjuagó con agua y se secó a presión reducida en un secador para producir 8-cloro-6-hidroxi-1,2-dihidroquinolin-2-ona (**5**) (1,4 g, 57%).

RMN  $^1H$  (300 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  10,79 (s, 1H), 9,86 (s, 1H), 7,84 (d,  $J = 9,5$  Hz, 1H), 7,13 (d,  $J = 2,5$  Hz, 1H), 7,02 (d,  $J = 2,5$  Hz, 1H), 6,54 (d,  $J = 9,5$  Hz, 1H).

Una mezcla de reacción de 8-cloro-6-hidroxi-1,2-dihidroquinolin-2-ona (**5**) (2 g, 10,2 mmoles, 1 eq.) en  $POCl_3$  (9,5 ml) se agitó a 110°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, y después se añadió agua lentamente. El precipitado resultante se filtró, se enjuagó con agua y se secó a presión reducida en un secador para producir 2,8-dicloroquinolin-6-ol (**6**) (1,6 g, 73%).

RMN  $^1H$  (300 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  10,54 (s, 1H), 8,32 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 7,59 7,52 (m, 2H), 7,23 (d,  $J = 2,6$  Hz, 1H).

Una mezcla de reacción de 2,8-dicloroquinolin-6-ol (**6**) (1 g, 4,7 mmoles, 1 eq.), hidrocloreuro de 4-(2-cloroetil)morfolina (**7**) (869 mg, 4,7 mmoles, 1 eq.), KI (775 mg, 4,7 mmoles, 1 eq.), carbonato de cesio (4,5 g, 14,0 mmoles, 1 eq.) en DMF anhidra (9,3 ml) se agitó a 90°C durante 20 horas en una atmósfera inerte de argón. La mezcla de reacción se concentró entonces a presión reducida, y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de salmuera, se secó sobre  $MgSO_4$ , se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para producir 2,8-dicloro-6-(2-morfolinoetoxi)quinolina (**8**) (930 mg, 61%).

RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8,00 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 7,57 (d,  $J = 2,7$  Hz, 1H), 7,41 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 7,03 (d,  $J = 2,7$  Hz, 1H), 4,22 (t,  $J = 5,6$  Hz, 2H), 3,76 (t,  $J = 4,8$  Hz, 4H), 2,87 (t,  $J = 5,6$  Hz, 2H), 2,61 (t,  $J = 4,8$  Hz, 4H).

Una mezcla de reacción de 2,8-dicloro-6-(2-morfolinoetoxi)quinolina (**8**) (164 mg, 0,5 mmol, 1 eq.), 2-amino-4-trifluorometilpiridina (**9**) (81 mg, 0,5 mmol, 1 eq.),  $Pd(OAc)_2$  (2,2 mg, 0,01 mmol, 2% en mol), XantPhos (5,8 mg, 0,01 mmol, 2% en mol) y  $Cs_2CO_3$  (456 mg, 1,4 mmol, 2,8 eq.) en  $t$ -BuOH (2 ml) se calentó en un reactor de microondas a

120°C durante 30 minutos. Al enfriar hasta la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó entonces con agua, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para producir 8-cloro-6-(2-morfolinoetoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina (1) (117 mg, 52%).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,48 (s, 1H), 8,42 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 8,00 - 7,88 (m, 2H), 7,52 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 7,07 - 6,96 (m, 2H), 4,21 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H), 3,77 (t, *J* = 4,2 Hz, 4H), 2,87 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H), 2,62 (t, *J* = 4,2 Hz, 4H).

MS (ESI) [M+H]<sup>+</sup> = 453,2

## 10 **Ejemplo 2: Modulación de la expresión de miR-124 por el compuesto de fórmula (1) en un modelo in vivo de enfermedad inflamatoria del intestino**

### A. Materiales y métodos

#### Estudios *ex vivo*

Extracción de PBMC usando un gradiente de FICOLL™

15 Para ese fin, se han aislado células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de varios donantes sanos mediante centrifugación en un gradiente de FICOLL™ según protocolos estándar.

De forma breve, se vierten 60-70 ml de capa leucocitaria en un matraz de 175 cm<sup>2</sup>, y el volumen se ajusta a 300 ml usando PBS a fin de obtener una dilución de alrededor de 5 veces de la capa leucocitaria. Entonces, se añaden 38 ml de capa leucocitaria diluida a tubos Falcon™ de 50 ml que comprenden 12 ml de FICOLL™ (Histopack-1077) a temperatura ambiente. La preparación se centrifuga durante 30 minutos a 515 rcf a temperatura ambiente. El anillo linfocítico se recupera del tubo Falcon™ con una pipeta de transferencia (Pastette®), y entonces se lava con PBS usando centrifugación durante 10 minutos a 290 rcf y a temperatura ambiente hasta que el sobrenadante se pone transparente.

25 Las células se resuspenden entonces a 37°C hasta una densidad de 1,5 x 10<sup>6</sup> células/ml en medio RPMI Glutamax (Life Technologies Ref 61870-010) suplementado con 10% de suero fetal de ternera (FCS) (Thermo Fischer Ref SV30160.03) y sin activación. Las células se incuban durante 48 horas a 37°C bajo 5% de CO<sub>2</sub>.

Tratamiento de las células con moléculas cribadas

30 Para el cribado, se usaron placas de seis pocillos. En cada pocillo, que comprende 3.10<sup>6</sup> células/4 ml de RPMI suplementado con 10% de suero fetal de ternera y 40 U/ml de IL-2 (Peprotech Ref 200-02), se añaden moléculas cribadas. Se añade DMSO al 100% (4 µl) al pocillo, y se ensaya como un control negativo.

Cada condición ensayada se monta como se describe aquí más abajo, y el volumen final correspondiente se ajusta en consecuencia en el pocillo:

1) Derivado de quinolina en 100% de DMSO – (5 µM y volumen final 4 µl)

2) Fármacos antirretrovirales: Maraviroc, Efavirenz, Darunavir, AZT (10 µM para todos – voll final 4 µl).

35 Los pocillos se incuban durante tres días a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub>. El medio se cambia (Día 3) según protocolos estándar. De forma breve, las placas se centrifugan a 290 rcf durante 5 minutos, y se eliminan 3 ml de sobrenadante. Entonces se añaden 3 ml de RPMI suplementado con 10% de suero fetal de ternera y 40 U/ml de IL-2 con 3 µl de una disolución madre de molécula cribada a 5 mM en 100% de DMSO o 3 µl de 100% de DMSO como control negativo.

40 Extracción de los miARN (Día 6)

Las células se recuperaron en los tubos Falcon™ de 15 ml, se centrifugaron a 290 rcf durante 5 minutos, y entonces se lavaron en 10 ml de PBS y se centrifugaron adicionalmente a 290 rcf durante 5 minutos. Las células se resuspendieron entonces en 1 ml de PBS y se contaron.

45 Se recuperaron 6 x 10<sup>6</sup> células, y se centrifugaron a 290 rcf durante 5 minutos. El pelete celular se lisó en 300 µl de amortiguador de lisis ML procedente del kit de extracción de miARN Macherey Nagel Nucleospin® (Macherey Nagel Ref 740971), y se almacenó posteriormente a -20°C.

50 Se añadieron para cada muestra 5 µl de 2 x 10<sup>8</sup> copias/µl de control de transcrito de secuencia y cantidad conocidas (Ce\_miR-39 de QIAGEN® - referencia 219610 de SEQ ID N°6). La extracción de miARN se logró usando el protocolo del kit de extracción de miARN de Macherey Nagel Nucleospin®, usando un volumen de elución para los ARN de 50 µl y para los miARN de 30 µl, y se almacenó posteriormente a -20°C.

Transcripción inversa de los miARN (Día 6)

La etapa de la transcripción inversa es seguida de 12 µl de miARN usando el kit de transcripción inversa (RT) miScript RT II de QIAGEN® usando el amortiguador miScript HiSpec, y se almacenó posteriormente a -20°C.

PCR cuantitativa de los miARN (Día 6)

- 5 La etapa de la PCR cuantitativa se logró usando el kit de PCR QIAGEN® miScript SYBR® Green y los ensayos con cebadores miScript, según el protocolo del fabricante.

Composición de la mezcla de reacción miScript para placas de 384 pocillos:

Mezcla	µl/reacción
Mezcla SYBR® Green 2X	<b>5</b>
Cebador Universal 10X	1
Ensayo de Cebador 10X	1
H <sub>2</sub> O	2
<u>Volumen de la Mezcla Total:</u>	<b>9</b>
<u>ADNc molde en H<sub>2</sub>O (*)</u>	<b>1</b>
<u>Volumen Final:</u>	<b>10</b>

(\*) ADNc preparado usando el kit de RT miScript II

- 10 La reacción se repite por triplicado en una placa de 384 pocillos según el protocolo del fabricante en un sistema de PCR de tiempo real LightCycler® 380 de Roche. Las condiciones del ciclado también se ajustan según el protocolo del fabricante:

Etapa	Tiempo	Temperatura
<u>Etapa inicial de activación</u>	15 min	95°C
<u>Ciclación de 3 etapas:</u>		
Denaturalización	15 s	94°C
Hibridación	30 s	55°C
Extensión	30 s	70°C
Número de ciclos	40 ciclos	

La cuantificación relativa y absoluta de qPCR son técnicas conocidas en la técnica, y se pueden lograr como se detalla posteriormente más abajo.

- 15 Cuantificación relativa

A partir de una dilución al 1/10 en H<sub>2</sub>O para la qPCR de miR-124 (Hs\_miR-124a), o al 1/100 para la qPCR del gen de referencia/de mantenimiento (Hs\_miR-26a y Hs\_miR-191, usando los ensayos de cebadores miScript (Hs\_miR-124a, Hs\_miR-26a y Hs\_miR-191, o QIAGEN® - referencias ms00006622, ms00029239 y ms00003682).

- 20 El análisis se logra usando modelos de cuantificación relativa sin corrección de la eficiencia ( $2^{-\Delta\Delta C_p}$ ), usando el promedio de los valores de los puntos de cruce (C<sub>p</sub>) procedentes de los triplicados de miR-124, y el promedio del promedio de triplicados de miR-26a y miR-191.

## B. Resultados

Se ha evaluado un conjunto de donantes (4 a 5 donantes). Usando el protocolo descrito anteriormente, se evaluó el cambio medio en veces (en comparación con DMSO) en la expresión de miR-124 con diferentes conjuntos de

donantes (ya sea 4 o 5) mediante cuantificación relativa, y se presenta en la Tabla 1 aquí a continuación:

Tabla 1

Molécula	Cambio en veces comparado con células tratadas con DMSO		Número de donantes ensayados
	Media	SD	
Compuesto de fórmula (1)	32,04	55,09	5
Maraviroc	0,73	0,56	4
Effavirenz	0,46	0,27	4
Darunavir	1,08	0,89	4
AZT	0,90	0,55	4

- 5 De este modo, las pruebas experimentales muestran que dicho compuesto indujo un aumento significativo de miR-124. Por el contrario, ninguno de los antirretrovirales conocidos (Maraviroc, Effavirenz, Darunavir o AZT) tiene ningún efecto significativo sobre la sobreexpresión de miR-124 en PBMC procedentes de cuatro donantes.

### Ejemplo 3: Inhibición de la producción de VIH-1 en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) infectadas

#### MATERIALES Y MÉTODOS

- 10 La primera determinación es aquella de la concentración de compuesto que exhibe los menores efectos secundarios en términos de viabilidad celular y progresión del ciclo celular.

- 15 Dentro de este marco, se aíslan células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de donantes sanos mediante centrifugación en un gradiente de FICOLL. Las células se activan entonces dos días hasta una densidad de  $1,5 \times 10^6$  células/ml en medio RPMI plutamax suplementado con 10% de suero fetal de ternera (FCS), 40 U/ml de IL2 y 5  $\mu\text{g/ml}$  de PHA, en una incubadora a  $37^\circ\text{C}$ , 5% de  $\text{CO}_2$ .

Se lleva a cabo un experimento estándar usando 96 placas para evaluar 30 moléculas por triplicado, incluyendo controles positivos y negativos, como sigue:

- 20 Las PBMCs activadas por PHA/IL2 se lavan con RPMI con 10% de FCS, y se resuspenden a  $1,5 \times 10^6$  células/ml en RPMI glutamax con 10% de FCS, 40 U/ml de IL2. Las células se siembran en 96 pocillos ( $1,5 \times 10^5$  células/pocillo/100  $\mu\text{l}$ ). La infección vírica se lleva a cabo con 1 ng de AdaM/pocillo. Se añaden a cada pocillo (concentración final 10  $\mu\text{M}$ ) 100  $\mu\text{l}$  de moléculas ensayadas, a concentración de 20  $\mu\text{M}$ . La producción de virus se determina mediante ensayos inmunsorbentes con el antígeno p24 tras 3 y 6 días de infección (Kit Innogenetics). Típicamente, las PBMCs se preparan a partir de varios donantes sanos (alrededor de 11 donantes diferentes). Entonces se establecieron las curvas de respuesta frente a la dosis con los compuestos seleccionados, para determinar la  $\text{IC}_{50}$ .

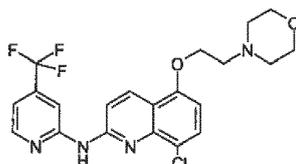
- 25 Protocolo de citotoxicidad:

- 30 Para evaluar la citotoxicidad de diferentes compuestos, se usó el mismo protocolo que antes para sembrar PBMCs en un volumen final de 50  $\mu\text{l}$ , sin añadir el virus, y 50  $\mu\text{l}$  de moléculas ensayadas. Tras incubar durante 6 días a  $37^\circ\text{C}$ , se añadieron 20  $\mu\text{l}$  de disolución CellTiter96 AqueousOne, para determinar el número de células viables en los ensayos de proliferación y de citotoxicidad (Promega). CellTiter96 AqueousOne es una disolución de ensayo colorimétrico que tiene muchas ventajas en comparación con los ensayos con MTT, y nos da resultados satisfactorios.

Resultados:

La eficacia del compuesto de fórmula (1) y del compuesto nº 1 como se describe en el documento WO 2012/080953 se mide mediante el ensayo inmunsorbente ligado a enzima específico del VIH, ELISA de p24.

- 35 Dicho compuesto nº 1, como se describe en el documento WO 2012/080953, presenta la siguiente estructura:



La eficacia del fármaco se expresa como porcentaje de inhibición del antígeno p24 del VIH en este ensayo rápido y sensible. Se espera que los compuestos de la presente invención exhiban una IC<sub>50</sub> menor que 10 μM, o incluso menor que 1 μM, *in vitro*.

- 5 Los siguientes resultados se pueden dar (media de 4 donantes) en la tabla 2 como sigue:

Tabla 2

Número del compuesto ensayado	Actividad (IC <sub>50</sub> )
Compuesto de fórmula (1)	0,43
Compuesto n°1 como se describe en el documento WO2012/080953	62,31

10 De este modo, las pruebas experimentales muestran que el compuesto de fórmula (1) aumenta los niveles de expresión de miR-124 en PBMCs. Por lo tanto, el resultado de los ensayos llevados a cabo sobre el compuesto de fórmula (1) descrito en la presente invención muestra que dicho compuesto de fórmula (1) puede ser útil para tratar y/o prevenir enfermedades inflamatorias como se describen además anteriormente.

Las pruebas experimentales establecen además que el compuesto de fórmula (1) muestra que es relevante como sustancia activa a la hora de inhibir o tratar SIDA, una afección relacionada con SIDA, y/o VIH.

15 Para este fin, se puede administrar una cantidad eficaz de dicho compuesto a un individuo que sufre de enfermedades inflamatorias o SIDA, una afección relacionada con SIDA, y/o VIH.

De este modo, el compuesto según la presente invención se puede implementar en una composición farmacéutica que puede contener una cantidad eficaz de dicho compuesto, y uno o más excipientes farmacéuticos.

Los excipientes mencionados anteriormente se seleccionan según la forma de dosificación y el modo deseado de administración.

20 En este contexto, pueden estar presentes en cualquier forma farmacéutica que sea adecuada para la administración entérica o parenteral, en asociación con excipientes apropiados, por ejemplo en forma de comprimidos lisos o revestidos, gelatina dura, cápsulas de cubierta blanda y otras cápsulas, supositorios, o formas bebibles, tales como suspensiones, jarabes, o disoluciones o suspensiones inyectables, en dosis que permiten la administración diaria de 0,1 a 1000 mg de sustancia activa.

25 Se puede usar cualquier vía de administración. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (1) se puede administrar por medios orales, parenterales, intravenosos, transdérmicos, intramusculares, rectales, sublinguales, mucosales, nasales, u otros medios. Además, el compuesto de fórmula (1) se puede administrar en forma de una composición farmacéutica y/o en una forma de dosificación unitaria.

En particular, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar oral y/o parenteralmente.

### 30 LISTADO DE SECUENCIAS

#### SEQ ID N°1

AGGCCUCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAAUGUCCAUAACA  
UUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAAUGGGGCUG

#### SEQ ID N°2

AUCAAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAU  
GUCAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAGCGGAGCCUACGGCUGC  
ACUUGAA

#### 35 SEQ ID N°3

UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCUAUACAA  
 UUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAGAGGGCGCCUCC

**SEQ ID N°4**

UAAGGCACGCGGUGAAUGCC

**SEQ ID N°5**

5 CGUGUUCACAGCGGACCUUGAU

**SEQ ID N°6**

UCACCGGGUGUAAAUCAGCUUG

LISTADO DE SECUENCIAS

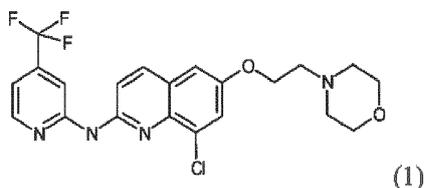
- <110> ABIVAX
- 10 CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
 INSTITUT CURIE  
 UNIVERSITE DE MONTPELLIER
- <120> UN DERIVADO DE QUINOLINA PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFLAMATORIAS Y SIDA
- 15 <130> PR73255  
 <150> EP14306166.1  
 < 151> 2014-07-17  
 <160> 6  
 <170> BiSSAP 1.3
- 20 <210> 1  
 < 211> 85  
 < 212> ARN  
 < 213> Homo sapiens  
 <400> 1  
 aggccucucu cuccguguuc acagcggacc uugauuuaaa ugucgauaca auuaaggcac 60
- 25 gcgguugaaug ccaagaaugg ggcug 85  
 <210> 2  
 < 211> 109  
 < 212> ARN  
 < 213> Homo sapiens
- 30 <400> 2  
 aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuuaa ugucauacaa 60  
 uuaaggcacg cggugaaugc caagagcggga gccuacggcu gcacuugaa 109  
 <210> 3  
 < 211> 87  
 < 212> ARN

# ES 2 701 922 T3

< 213> Homo sapiens  
<400> 3  
ugagggcccc ucugcguguu cacagcggac cuugauuuuaa ugucuauaca auuaaggcac 60  
gcggugaaug ccaagagagg cgccucc 87  
<210> 4  
5 < 211> 20  
< 212> ARN  
< 213> Homo sapiens  
<400> 4  
uaaggcacgc ggugaaugcc 20  
10 <210> 5  
< 211> 22  
< 212> ARN  
< 213> Homo sapiens  
<400> 5  
15 cguguucaca gcggaccuug au 22  
<210> 6  
< 211> 22  
< 212> ARN  
< 213> Caenorhabditis elegans  
20 <400> 6  
ucaccgggug uaaaucagcu ug 22

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (1)



en forma de una base o sal de adición con un ácido, particularmente un ácido farmacéuticamente aceptable.

5 2. Compuesto según la reivindicación 1, para uso como un medicamento.

3. Compuesto de fórmula (1) según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de infección retroviral, y en particular SIDA, o una afección relacionada con SIDA, o virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

4. Compuesto de fórmula (1) según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedad inflamatoria.

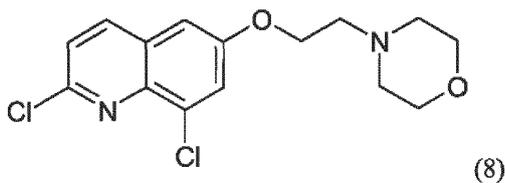
10 5. Compuesto de fórmula (1) para uso según la reivindicación anterior, en el que dicha enfermedad inflamatoria se selecciona de la lista que consiste en: una enfermedad inflamatoria asociada con una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tubo digestivo, enfermedades inflamatorias de la piel y otras enfermedades inflamatorias relacionadas con células epiteliales, e inflamación asociada con cáncer, inflamación asociada con irritación, e inflamación asociada con lesión.

15 6. Compuesto de fórmula (1) para uso según la reivindicación anterior, en el que dicha enfermedad inflamatoria se selecciona de la lista que consiste en: enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, esclerosis múltiple, osteoartritis, espondilitis anquilosante, psoriasis, síndrome de Sjogren, bronquitis, y carcinoma de colon.

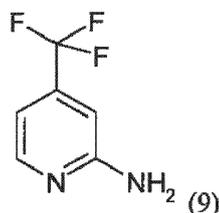
20 7. Composición farmacéutica que comprende el compuesto según la reivindicación 1, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

8. Medicamento que comprende el compuesto según la reivindicación 1.

9. Procedimiento para preparar un compuesto según la reivindicación 1, que comprende: la etapa de hacer reaccionar un compuesto de fórmula (8)



25 con un compuesto de fórmula (9)



30 en presencia de una base inorgánica, tal como una base de carbonato, por ejemplo cesio, potasio o sodio, o una base de terc-butóxido, por ejemplo cesio, potasio o sodio, en presencia de un catalizador, preferiblemente un catalizador de paladio, y preferiblemente en presencia de un ligando, tal como un ligando de fosfina o un ligando derivado de ferroceno, por ejemplo un ligando de fosfina bidentado, opcionalmente con calentamiento a una temperatura que oscila de 90 a 150°C.

10. Compuesto de fórmula (8)

