

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 854**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4245	(2006.01)	A61P 25/28	(2006.01)
A61K 31/436	(2006.01)	A61P 27/02	(2006.01)
A61P 5/00	(2006.01)	A61P 35/00	(2006.01)
A61P 5/14	(2006.01)		
A61P 7/00	(2006.01)		
A61P 9/10	(2006.01)		
A61P 11/00	(2006.01)		
A61P 21/00	(2006.01)		
A61P 25/00	(2006.01)		
A61P 25/16	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2011 PCT/EP2011/063126**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **09.02.2012 WO12016930**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2011 E 11736401 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2018 EP 2600865**

54 Título: **Compuesto útil para el tratamiento de enfermedades mediadas por una mutación sin sentido y composición farmacéutica que comprende dicho compuesto**

30 Prioridad:

05.08.2010 FR 1056472

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.04.2019

73 Titular/es:

**UNIVERSITÉ DE LILLE (33.3%)
42, rue Paul Duez
59800 Lille, FR;
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA
RECHERCHE MÉDICALE (33.3%) y
INSTITUT PASTEUR DE LILLE (33.3%)**

72 Inventor/es:

**LEJEUNE, FABRICE;
DEPREZ, BENOIT;
BEGHYN, TERENCE y
GONZALEZ-HILARION, SARA SOFIA**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 710 854 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

Compuesto útil para el tratamiento de enfermedades mediadas por una mutación sin sentido y composición farmacéutica que comprende dicho compuesto

5 La presente invención se refiere a un compuesto usado para el tratamiento, la prevención o el diagnóstico de una enfermedad genética causada por una mutación sin sentido también denominada "enfermedad mediada por una mutación sin sentido". La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto mencionado anteriormente. La presente invención se refiere además a un método para la determinación de la presencia de una mutación sin sentido en un gen dado.

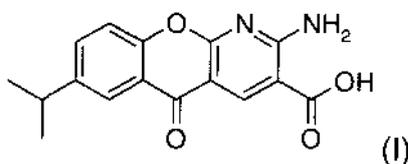
10 Una mutación sin sentido es una mutación genética en marco que conduce a la transformación de un codón sentido en un codón de terminación prematura en el ARN mensajero (en lo sucesivo en el presente documento ARNm). Un codón de terminación prematura (en lo sucesivo en el presente documento PTC) se define como un codón de terminación situado en la secuencia codificante de un gen, corriente arriba del codón de terminación normal. El codón de terminación normal detiene la traducción génica y permite la síntesis de proteínas de tipo natural de longitud completa. El PTC evita la síntesis de proteínas de tipo natural y conduce al silenciamiento del gen mutado. La carencia de una proteína (carencia parcial o total) conduce a una patología. Por ejemplo, un PTC en el gen que codifica la proteína distrofina causa Distrofia Muscular de Duchenne mediada por una mutación sin sentido.

20 Se conoce que los cánceres prostáticos mediados por una mutación sin sentido están causados por un PTC en los genes JAK1, SYNJ2 o CLPTM1 (véase "Identification of inactivating mutations in the JAK1, SYNJ2 and CLPTM1 genes in prostate cancer cells, using inhibition of nonsense-mediated decay and microarray analysis" en Cancer genetics and cytogenetics (2005)). También se conoce que la epilepsia mediada por una mutación sin sentido está causada por un PTC en el gen de la subunidad receptora de GABA_A (véase "Making sense of nonsense GABA_A receptor mutations associated with genetic epilepsies" en Cell (2010)).

30 El documento de Patente WO 2008/101935 desvela compuestos útiles para el tratamiento de enfermedades mediadas por una mutación sin sentido. Los compuestos que se desvelan en este documento son derivados de indol y se han sometido a ensayo en células cancerígenas HeLa transfectadas previamente con dos plásmidos y en dos líneas celulares linfoblásticas provenientes de pacientes con DMD (distrofia muscular de Duchenne). El documento de Patente WO 2004/091502 desvela compuestos útiles en el tratamiento de enfermedades genéticas causadas por una PTC que proviene de una mutación sin sentido. Uno de los compuestos que se desvelan en el documento de Patente WO 2004/091502 (ataluren) se está estudiando en la actualidad en un ensayo clínico en fase 2a como tratamiento oral para hemofilia A y B mediada por una mutación sin sentido, en un ensayo en fase 2 en Acidemia Metilmalónica mediada por una mutación sin sentido y en un ensayo en fase 3 en sujetos con fibrosis quística mediada por una mutación sin sentido. Ya se ha completado un ensayo en fase 2a en sujetos con distrofia muscular de Duchenne/Becker mediada por una mutación sin sentido.

40 Un fin de la presente invención es proporcionar un compuesto que permite el tratamiento de enfermedades genéticas, causadas por una mutación sin sentido.

Por lo tanto, la presente invención proporciona el compuesto de fórmula (I)



45 o una sal, solvato, clatrato, hidrato o polimorfo del mismo para su uso en el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad genética, siendo dicha enfermedad genética una enfermedad mediada por una mutación sin sentido.

50 El compuesto de Fórmula (I) (ácido 2-amino-7-isopropil-5-oxo-5H-cromeno[2,3-d]piridina-3-carboxílico) se denomina habitualmente amlexanox. En la actualidad, se usa como agente terapéutico para el tratamiento de asma y rinitis alérgica cuando se administra por vía oral, y para el tratamiento de úlceras bucales cuando se usa por vía tópica.

55 También se usa para el tratamiento de úlcera aftosa (Aphthasol®). Se conoce por sus propiedades antiinflamatorias y antialérgicas. También se usa en el tratamiento de asma bronquial. Su perfil seguro se conoce bien.

60 El documento de Patente WO2009/151589 se refiere a un método de tratamiento de un trastorno proliferativo de linfocitos B mediante la administración a un paciente de un agonista de BAR (receptor Beta(2)-adrenérgico). El agonista de BAR se puede administrar como una monoterapia o en combinación con uno o más de otros agentes, tales como un inhibidor enzimático de PDE. El compuesto de acuerdo con la invención se cita en una larga lista de

compuestos como inhibidor de PDE. El documento de Patente WO2009/151569 no indica ni sugiere que esté implicada una mutación genética en el mecanismo proliferativo mencionado anteriormente.

5 El documento de Patente WO 2008/021210 se refiere a un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo usando los compuestos enumerados en diversas tablas. El compuesto de acuerdo con la presente invención se desvela en la Tabla 1a como un antihistamínico (H1), un antagonista del receptor de leucotrieno, un antialérgico y un antiinflamatorio. El documento de Patente WO 2008/021210 no desvela ni sugiere que una mutación genética desempeñe un papel en las enfermedades tratadas.

10 El documento de Patente WO 2010/139985 desvela el uso del compuesto de acuerdo con la presente invención para el tratamiento de una enfermedad asociada a neutrofilia. La neutrofilia es un término usado para una afección en un paciente en la que dicho paciente tiene un gran número de neutrófilos granulocitos en la sangre. Los neutrófilos son el tipo más abundante de leucocitos en los mamíferos. Los neutrófilos están asociados a enfermedades inflamatorias. Los neutrófilos son la primera respuesta en el proceso inflamatorio, en particular, en una infección bacteriana, exposición ambiental y algunos cánceres. El documento de Patente WO 2010/139985 no desvela ni sugiere el uso del compuesto mencionado anteriormente para el tratamiento de una enfermedad mediada por una mutación sin sentido.

20 Además, el documento de Patente US 2007/0135473 desvela el uso del compuesto de acuerdo con la presente invención para el tratamiento de enfermedades asociadas a células tumorales que expresan una o más proteínas de la familia S100. El compuesto mencionado anteriormente se considera eficaz en retrasar el progreso y/o la metástasis de estos tumores. Las proteínas S100 se han visto implicadas en una diversidad de funciones intracelulares y extracelulares. Las proteínas S100 se ven implicadas en la regulación de la fosforilación de proteínas, factores de transcripción, homeostasis de Ca⁺⁺, la dinámica de los constituyentes del citoesqueleto, actividades enzimáticas, crecimiento y diferenciación celular, y la respuesta inflamatoria. Sin embargo, el documento de Patente US 2007/0135473 no desvela ni sugiere el uso del compuesto de Fórmula (I) para el tratamiento de una enfermedad mediada por una mutación sin sentido. Además, no existe ninguna evidencia de que las proteínas S100 estén implicadas en una enfermedad causada por una mutación sin sentido.

30 Los Solicitantes han descubierto que el compuesto de Fórmula (I) es capaz de inhibir el decaimiento del ARNm mediado sin sentido (en lo sucesivo en el presente documento denominado NMD) y/o tiene un efecto de lectura a través, dependiendo de los genes multados, como se explica posteriormente en el presente documento. Por lo tanto, el compuesto de la invención permite la síntesis funcional de proteínas.

35 Teóricamente, cuando está presente un PTC en un ARNm, los ribosomas deberían sintetizar una proteína truncada. Las proteínas truncadas tienen una cadena peptídica más corta en comparación con las proteínas de tipo natural. Una proteína de tipo natural se define como una proteína sintetizada cuando los genes correspondientes no comprenden ninguna mutación. Las proteínas truncadas pueden ser funcionales o no. En otras palabras, las proteínas truncadas pueden producir o no producir los mismos efectos en las células o el cuerpo completo que los efectos producidos por las proteínas de tipo natural. Los ARNm que contienen un PTC se erradican por parte del organismo antes de que se produzca una traducción estable. Este decaimiento del ARNm que contiene PTC también se denomina decaimiento de ARNm mediado sin sentido (NMD). NMD es un mecanismo de supervivencia cualitativo natural que existe en todos los organismos eucariotas. NMD se dirige a la degradación de los ARN que contienen PTC.

45 En algunos casos, la proteína truncada que provendría de la traducción de un gen que contiene una mutación sin sentido sería funcional. Se puede conseguir la funcionalidad de la proteína truncada a pesar del hecho de que la proteína truncada sea más corta que la proteína de tipo natural. En otras palabras, incluso si la proteína truncada es diferente de la de tipo natural, puede producir en las células y el organismo los mismos efectos que los que produciría la proteína de tipo natural. En estos casos, las proteínas truncadas producen el fenotipo de tipo natural. Por lo tanto, en este caso, si se inhibe NMD, las proteínas truncadas funcionales permanecen en la célula y tienen la misma función en la célula y de ese modo en el organismo que la proteína de tipo natural, justo como si el gen correspondiente no albergara ninguna mutación sin sentido.

55 El mecanismo del NMD se conoce bien y se describe en varias publicaciones (véanse Conti, E. y E, Izaurre. *Nonsense-mediated mRNA decay: molecular insights and mechanistic variations across species*. Curr Opin Cell Biol, 2005. 17(3): pág. 316-25 y Maquat, L.E., *Nonsense-mediated mRNA decay: splicing, translation and mRNP dynamics*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2004. 5(2): pág. 89-99).

60 Se conoce que, en condiciones específicas, a pesar de la presencia de un codón de terminación (prematureo o no) alojado en el ARNm, el ribosoma continúa la traducción de dicho ARNm en proteína mediante la incorporación de un aminoácido en la posición del codón de terminación. Este fenómeno se denomina "lectura a través". El aminoácido incorporado a la posición sin sentido puede ser idéntico al aminoácido presente en la proteína de tipo natural o distinto. Por lo tanto, la proteína resultante puede ser funcional o no dependiendo del papel del aminoácido situado en la posición sin sentido, para la función de la proteína.

65

En los últimos años se ha producido un intento de desarrollar enfoques farmacológicos para las mutaciones que generan los PTC en marco. Estos enfoques terapéuticos se dirigen a estimular la lectura a través traduccional de los PTC para permitir la síntesis y la expresión de proteínas funcionales de longitud completa a niveles suficientes. En la mayoría de estos estudios, los fármacos de lectura a través fueron aminoglucósidos, principalmente gentamicina. El beneficio clínico de la gentamicina es limitado dado que los tratamientos a altas concentraciones y/o a largo plazo tienen graves efectos secundarios tales como lesión renal y pérdida de la audición. Recientemente, se ha identificado PTC124 o ataluren como un compuesto orgánico pequeño capaz de estimular la lectura a través de los PTC. El documento de Patente WO2004/091502 desvela PTC124 y derivados del ácido 1,2,4-oxadiazol benzoico.

5 De acuerdo con la presente invención, "inhibición de NMD" significa la inhibición parcial o total del NMD y "lectura a través de PTC" significa la lectura parcial o total a través de un PTC. Se ha descubierto que el compuesto de acuerdo con la invención tiene un efecto de lectura a través. Por lo tanto, el compuesto de acuerdo con la invención se puede usar para el tratamiento de una enfermedad genética causada por una mutación sin sentido (también denominada enfermedad mediada por una mutación sin sentido). Dicha mutación sin sentido se define como una mutación que activa el NMD.

10 De acuerdo con la presente invención, una "proteína funcional" se define como una proteína truncada o no truncada capaz de tener las mismas funciones celulares que la proteína de tipo natural. Cuando el compuesto de acuerdo con la invención inhibe el NMD, se puede obtener una proteína truncada funcional. Cuando el compuesto de acuerdo con la invención estimula la lectura a través del PTC, se puede obtener una proteína no truncada funcional. La inhibición de NMD puede ser una inhibición completa o solo una inhibición parcial. En el caso de una inhibición parcial, el compuesto de acuerdo con la invención puede no suprimir completamente el NMD. Cuando el compuesto de acuerdo con la invención inhibe NMD parcial o totalmente, aumenta la cantidad de ARNm que contiene PTC, de un modo tal que se puede ver favorecida la estimulación de la lectura a través por parte del compuesto.

15 Se conoce que una pequeña cantidad de proteína funcional puede ser suficiente para permitir una actividad normal en las células, tejido y/o el organismo completo. En ocasiones, una baja concentración de proteína funcional puede ser suficiente para obtener un fenotipo de tipo natural en los pacientes. De acuerdo con la presente invención, el término "paciente" se refiere a cualquier tipo de organismo vivo, más particularmente un animal tal como un mamífero y más particularmente un ser humano.

El compuesto de acuerdo con la invención permite tratar y/o prevenir una enfermedad mediada por una mutación sin sentido. El compuesto de la invención permite eliminar o atenuar uno o más de los síntomas de la enfermedad.

20 El compuesto de acuerdo con la invención se puede administrar a cualquier paciente como se ha definido anteriormente en el presente documento, estando dicho paciente afectado por una enfermedad que se ha definido anteriormente en el presente documento. Se pueden usar sales del compuesto de fórmula (I) y no se limitan de acuerdo con la invención. Por ejemplo, las sales obtenidas por reacción del compuesto de fórmula (I) con un compuesto alcalino también están incluidas en la presente invención. Se pueden obtener sales de sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio y cloruro mediante tal reacción. La reacción entre el compuesto de fórmula (I) y al menos un ácido orgánico o inorgánico también puede proporcionar otras sales.

De acuerdo con la presente invención, el término polimorfo se refiere a cualquier mezcla de formas amorfas o cristalinas del compuesto de acuerdo con la invención.

25 De acuerdo con la invención, la enfermedad causada por una mutación sin sentido no se limita. Se han descrito numerosas enfermedades mediadas por una mutación sin sentido. Numerosos órganos o funciones del cuerpo se pueden ver afectados por una enfermedad mediada por una mutación sin sentido, tales como la función hepática o gastrointestinal, o las funciones, metabolismo, organogénesis, inflamación e inmunidad renales, cardiovasculares, pulmonares, musculares, de la médula ósea, y del sistema nervioso central.

Por ejemplo, dicha enfermedad mediada por una mutación sin sentido se puede elegir entre:

30 beta-talasemia Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Ehlers-Danlos Mediado por una Mutación Sin Sentido, epilepsia mioclónica grave de la infancia Mediada por una Mutación Sin Sentido, acromatopsia Mediada por una Mutación Sin Sentido, retinitis pigmentosa Mediada por una Mutación Sin Sentido, Síndrome de Usher de tipo 1C Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de pulgar-pie equinovaro aducido Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alagille Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alström Mediado por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de antitrombina Mediada por una Mutación Sin Sentido, complejo de Carney Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Currarino Mediado por una Mutación Sin Sentido, anemia de Diamond-Blackfan Mediada por una Mutación Sin Sentido, protoporfiria eritropoyética Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Fabry Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de Factor XIII Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Fanconi-Bickel Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de olor a pescado Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Gaucher Mediada por una Mutación Sin Sentido, telangiectasia hemorrágica hereditaria Mediada por una Mutación Sin Sentido, homocistinuria Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Joubert Mediado por una Mutación Sin Sentido y trastornos relacionados,

enfermedad de Krabbe Mediada por una Mutación Sin Sentido, aciduria L-2-hidroxi-glutárica Mediada por una Mutación Sin Sentido, Acidemia metilmalónica Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Niemann-Pick Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Peters plus Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Townes-Brocks Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Von Willebrand Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Wiskott-Aldrich Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Kabuki Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Chanarin-Dorfman Mediado por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de lecitina colesterol aciltransferasa/enfermedad de ojo de pez Mediada por una Mutación Sin Sentido, Síndrome de Marfan Mediado por una Mutación Sin Sentido, Mucopolisacaridosis Mediada por una Mutación Sin Sentido, Amiloidosis Mediada por una Mutación Sin Sentido, Lipofuscinosis neuronal ceroida infantil tardía Mediada por una Mutación Sin Sentido, Deficiencia de coenzima Q10 Mediada por una Mutación Sin Sentido, trastornos de la biogénesis peroxisomal Mediados por una Mutación Sin Sentido, trastornos de almacenamiento lisosomal Mediados por una Mutación Sin Sentido, cáncer colorrectal Mediado por una Mutación Sin Sentido, deficiencia congénita de enteropeptidasa Mediada por una Mutación Sin Sentido, Fibrosis quística Mediada por una Mutación Sin Sentido, Síndrome de Peutz-Jeghers húngaro Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Jervell y Lange-Nielsen Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Lynch Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de inclusiones en microvellosidades Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Peutz-Jeghers Mediado por una Mutación Sin Sentido, xantínuria Mediada por una Mutación Sin Sentido, Acidosis Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alport Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Bardet-Biedl Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Birt-Hogg-Dubé Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Dent Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Gitelman Mediado por una Mutación Sin Sentido, leiomiomatosis hereditaria y cáncer de células renales Mediados por una Mutación Sin Sentido, esferocitosis hereditaria Mediada por una Mutación Sin Sentido, amaurosis congénita de Leber Mediada por una Mutación Sin Sentido, intolerancia a la proteína lisinúrica Mediada por una Mutación Sin Sentido, Nefronofthis Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad del riñón poliquístico Mediada por una Mutación Sin Sentido, pseudohipoaldosteronismo Mediado por una Mutación Sin Sentido, hipodisplasia renal Mediada por una Mutación Sin Sentido, carcinoma de células renales con células claras esporádico Mediado por una Mutación Sin Sentido, cánceres de células renales papilar de tipo 2 Mediados por una Mutación Sin Sentido, Síndrome Urofacial Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de von Hippel-Lindau Mediada por una Mutación Sin Sentido, tumor de Wilms Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alport ligado al cromosoma X Mediado por una Mutación Sin Sentido, raquitismo hipofosfatémico ligado al cromosoma X Mediada por una Mutación Sin Sentido, Nefropatía hiperuricémica (enfermedad juvenil/de riñón quístico medular) Mediada por una Mutación Sin Sentido, Esclerosis tuberosa Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome nefrótico/síndrome nefrótico congénito Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome nefrótico de tipo finlandés Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome nefrótico 3 Mediado por una Mutación Sin Sentido resistente a esteroides, síndrome nefrótico/síndrome de Pierson Mediado por una Mutación Sin Sentido de inicio temprano, síndrome de Denys-Drash Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome nefrótico/displasia inmuno ósea de Schimke Mediado por una Mutación Sin Sentido, resistencia primaria a glucocorticoides Mediada por una Mutación Sin Sentido, hipofosfatemia ligada al cromosoma X Mediada por una Mutación Sin Sentido, hiperoxaluria primaria de tipo 1 Mediada por una Mutación Sin Sentido, pseudohipoaldosteronismo de tipo 1 Mediado por una Mutación Sin Sentido, acidosis tubular renal proximal Mediada por una Mutación Sin Sentido, Abetalipoproteinemia e Hipobetalipoproteinemia familiar homocigótica Mediadas por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alpers Mediado por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de carbamoil fosfato sintetasa I Mediada por una Mutación Sin Sentido, Enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de citrina Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Dubin-Johnson Mediado por una Mutación Sin Sentido, protoporfiria eritropoyética Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de Factor V Mediada por una Mutación Sin Sentido, Enfermedad de almacenamiento de glucógeno Mediada por una Mutación Sin Sentido, Hemofilia A (deficiencia de factor VIII) Mediada por una Mutación Sin Sentido, Hemofilia B (deficiencia de factor IX) Mediada por una Mutación Sin Sentido, carcinoma hepatocelular Mediado por una Mutación Sin Sentido, Porfiria hepatoeritropoyética Mediada por una Mutación Sin Sentido, paraplejias espásticas hereditarias Mediadas por una Mutación Sin Sentido, Hipobetalipoproteinemia Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia hereditaria de factor XI Mediada por una Mutación Sin Sentido, diabetes de la edad madura presentada en la juventud Mediada por una Mutación Sin Sentido, anemia microcítica y deficiencia de hierro Mediadas por una Mutación Sin Sentido, Agotamiento de ADN Mitocondrial Mediado por una Mutación Sin Sentido, Síndrome de agotamiento de ADN Mitocondrial Mediado por una Mutación Sin Sentido, fenilcetonuria Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad del hígado poliquístico Mediada por una Mutación Sin Sentido, porfiria cutánea tarda Mediada por una Mutación Sin Sentido, colestasis intrahepática familiar progresiva Mediada por una Mutación Sin Sentido, Enfermedad de Wilson Mediada por una Mutación Sin Sentido, hipercolesterolemia autosómica dominante Mediada por una Mutación Sin Sentido, Deficiencia de factor XII Mediada por una Mutación Sin Sentido, Deficiencia de factor X Mediada por una Mutación Sin Sentido, hipofibrinogenemia Mediada por una Mutación Sin Sentido, Afibrinogenemia Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de factor VII Mediada por una Mutación Sin Sentido, agammaglobulinemia Mediada por una Mutación Sin Sentido, trombocitopenia amegacariocítica Mediada por una Mutación Sin Sentido, anemia diseritropoyética de tipo II Mediada por una Mutación Sin Sentido, Distrofia muscular de Duchenne y Becker Mediada por una Mutación Sin Sentido, miopatía centronuclear Mediada por una Mutación Sin Sentido, distrofia muscular de cinturas o miopatía de Miyoshi Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Ullrich Mediada por una Mutación Sin Sentido, atrofia muscular espinal Mediada por una Mutación Sin Sentido, epidermólisis ampollar distrófica Mediada por una Mutación Sin Sentido, Enfermedad de Hailey-Hailey Mediada por una Mutación Sin Sentido, epidermólisis ampollar articular de

Herlitz Mediada por una Mutación Sin Sentido, y síndrome de Netherton Mediado por una Mutación Sin Sentido.

En una realización, la enfermedad mediada por una mutación sin sentido se selecciona entre beta-talasemia, síndrome de Marfan, Distrofia muscular de Duchenne, Distrofia muscular de Becker, enfermedad de Ullrich, síndrome de Hurler, cáncer, fibrosis quística, Atrofia muscular espinal, amitosis, LINCL (Lipofuscinosis neuronal ceroida infantil tardía), Hemofilia, enfermedad de Alzheimer, Aterosclerosis, Gigantismo, Enanismo, Hipotiroidismo, Hipertiroidismo, Obesidad, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Niemann Pick, hipercolesterolemia familiar, y retinitis pigmentosa.

Diversos estudios han mostrado que el compuesto de Fórmula (I) se distribuye preferentemente en el hígado, los riñones y el intestino. Los pulmones, el corazón, los músculos y la piel están ligeramente menos expuestos por parte del compuesto de Fórmula (I) después de administración oral. Considerando la fisiopatología de las enfermedades y los órganos afectados por cada enfermedad citada anteriormente en el presente documento, y de acuerdo con la presente invención, dichas enfermedades mediadas por una mutación sin sentido se pueden elegir preferentemente entre:

Enfermedades que afectan al hígado:

Abetalipoproteinemia e Hipobetalipoproteinemia familiar homocigótica Mediadas por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alpers Mediado por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de carbamoil fosfato sintetasa I Mediada por una Mutación Sin Sentido, Enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de citrina Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Dubin-Johnson Mediado por una Mutación Sin Sentido, protoporfiria eritropoyética Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de Factor V Mediada por una Mutación Sin Sentido, Enfermedad del almacenamiento de glucógeno Mediada por una Mutación Sin Sentido, Hemofilia A (Deficiencia de factor VIII) Mediada por una Mutación Sin Sentido, Hemofilia B (Deficiencia de factor IX) Mediada por una Mutación Sin Sentido, carcinoma hepatocelular Mediado por una Mutación Sin Sentido, Porfiria hepatoeritropoyética Mediada por una Mutación Sin Sentido, paraplejas espásticas hereditarias Mediadas por una Mutación Sin Sentido, Hipobetalipoproteinemia Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia hereditaria de factor XI Mediada por una Mutación Sin Sentido, Diabetes de la edad madura presentada en la juventud Mediada por una Mutación Sin Sentido, anemia microcítica y deficiencia de hierro Mediadas por una Mutación Sin Sentido, agotamiento de ADN mitocondrial Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de agotamiento de ADN mitocondrial Mediado por una Mutación Sin Sentido, fenilcetonuria Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad del hígado poliquístico Mediada por una Mutación Sin Sentido, porfiria cutánea tarda Mediada por una Mutación Sin Sentido, colestasis intrahepática familiar progresiva Mediada por una Mutación Sin Sentido, Enfermedad de Wilson Mediada por una Mutación Sin Sentido, hipercolesterolemia autosómica dominante Mediada por una Mutación Sin Sentido, Deficiencia de factor XII Mediada por una Mutación Sin Sentido, Deficiencia de factor X Mediada por una Mutación Sin Sentido, hipofibrinogenemia Mediada por una Mutación Sin Sentido, Afibrinogenemia Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de Factor VII Mediada por una Mutación Sin Sentido.

Enfermedades que afectan a los riñones:

Acidosis Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alport Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Bardet-Biedl Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Birt-Hogg-Dubé Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Dent Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Gitelman Mediado por una Mutación Sin Sentido, leiomiomatosis hereditaria y cáncer de células renales Mediados por una Mutación Sin Sentido, esferocitosis hereditaria Mediada por una Mutación Sin Sentido, amaurosis congénita de Leber Mediada por una Mutación Sin Sentido, Intolerancia a la proteína lisinúrica Mediada por una Mutación Sin Sentido, Nefronoftisis Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad del riñón poliquístico Mediada por una Mutación Sin Sentido, pseudohipoaldosteronismo Mediado por una Mutación Sin Sentido, hipodisplasia renal Mediada por una Mutación Sin Sentido, carcinoma de células renales con células claras esporádico Mediado por una Mutación Sin Sentido, cánceres de células renales papilares de tipo II Mediados por una Mutación Sin Sentido, Síndrome Urofacial Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de von Hippel-Lindau Mediada por una Mutación Sin Sentido, tumor de Wilms Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alport ligado al cromosoma X Mediado por una Mutación Sin Sentido, raquitismo hipofosfatémico ligado al cromosoma X Mediado por una Mutación Sin Sentido, Nefropatía hiperuricémica (enfermedad juvenil/de riñón quístico medular) Mediada por una Mutación Sin Sentido, Esclerosis tuberosa Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome nefrótico/síndrome nefrótico congénito Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome nefrótico de tipo finlandés Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome nefrótico 3 Mediado por una Mutación Sin Sentido resistente a esteroides, síndrome nefrótico/síndrome de Pierson Mediado por una Mutación Sin Sentido de inicio temprano, síndrome de Denys-Drash Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome nefrótico/displasia inmuno ósea de Schimke Mediado por una Mutación Sin Sentido, resistencia primaria a glucocorticoides Mediada por una Mutación Sin Sentido, hipofosfatemia ligada al cromosoma X Mediada por una Mutación Sin Sentido, hiperoxaluria primaria de tipo 1 Mediada por una Mutación Sin Sentido, pseudohipoaldosteronismo de tipo 1 Mediado por una Mutación Sin Sentido, acidosis tubular renal proximal Mediada por una Mutación Sin Sentido.

Enfermedades que afectan al intestino:

Cáncer colorrectal Mediado por una Mutación Sin Sentido, deficiencia congénita de enteropeptidasa Mediada por una Mutación Sin Sentido, Fibrosis quística Mediada por una Mutación Sin Sentido, Síndrome de Peutz-Jeghers húngaro Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Jervell y Lange-Nielsen Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Lynch Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de inclusiones en microvellosidades Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Peutz-Jeghers Mediado por una Mutación Sin Sentido, xantínuria Mediada por una Mutación Sin Sentido.

10 Enfermedades que afectan a varios órganos:

Beta-talasemia Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Ehlers-Danlos Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de pulgar-pie equinovaro aducido Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alagille Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Alström Mediado por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de antitrombina Mediada por una Mutación Sin Sentido y trastornos relacionados, enfermedad de Carney Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Currarino Mediado por una Mutación Sin Sentido, anemia de Diamond-Blackfan Mediada por una Mutación Sin Sentido, protoporfiria eritropoyética Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Fabry Mediada por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de Factor XIII Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Fanconi-Bickel Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de olor a pescado Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Gaucher Mediada por una Mutación Sin Sentido, telangiectasia hemorrágica hereditaria Mediada por una Mutación Sin Sentido, homocistinuria Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Joubert Mediado por una Mutación Sin Sentido y trastornos relacionados, enfermedad de Krabbe Mediada por una Mutación Sin Sentido, aciduria L-2-hidroxiglutarica Mediada por una Mutación Sin Sentido, Acidemia metilmalónica Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Niemann-Pick Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Peters plus Mediado por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Townes-Brocks Mediada por una Mutación Sin Sentido, enfermedad de Von Willebrand Mediada por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Wiskott-Aldrich Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Kabuki Mediado por una Mutación Sin Sentido, síndrome de Chanarin-Dorfman Mediado por una Mutación Sin Sentido, deficiencia de lecitina colesterol aciltransferasa/enfermedad de ojo de pez Mediada por una Mutación Sin Sentido, Síndrome de Marfan Mediado por una Mutación Sin Sentido, Mucopolisacaridosis Mediada por una Mutación Sin Sentido, Amiloidosis Mediada por una Mutación Sin Sentido, Lipofuscinosis neuronal ceroida infantil tardía Mediada por una Mutación Sin Sentido, Deficiencia de coenzima Q10 Mediada por una Mutación Sin Sentido, trastornos de la biogénesis peroxisomal Mediadados por una Mutación Sin Sentido, trastornos de almacenamiento lisosomal Mediadados por una Mutación Sin Sentido.

Considerando que el compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) se puede administrar por vía tópica, y de acuerdo con la presente invención, dichas enfermedades mediadas por una mutación sin sentido también se pueden elegir entre las siguientes enfermedades que afectan a los ojos:

acromatopsia Mediada por una Mutación Sin Sentido, retinitis pigmentosa Mediada por una Mutación Sin Sentido, Síndrome de Usher de tipo 1C Mediado por una Mutación Sin Sentido, epidermólisis ampollar distrófica Mediada por una Mutación Sin Sentido, Enfermedad de Hailey-Hailey Mediada por una Mutación Sin Sentido, epidermólisis ampollar articular de Herlitz Mediada por una Mutación Sin Sentido, y síndrome de Netherton Mediado por una Mutación Sin Sentido.

Habitualmente, el compuesto de acuerdo con la presente invención, ya sea solo (en cualquiera de las formas que se han descrito anteriormente) o en combinación con otro agente activo, se administra a los pacientes en una mezcla con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes se eligen de forma adecuada dependiendo del modo de administración y de la influencia del excipiente en la solubilidad y la estabilidad del compuesto. La forma galénica también puede ser pertinente.

Por lo tanto, un segundo aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento y/o la profilaxis de una enfermedad genética, siendo dicha enfermedad genética una enfermedad mediada por una mutación sin sentido. La composición farmacéutica de acuerdo con la invención comprende, como ingrediente activo, al menos el compuesto de fórmula (I) y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición de acuerdo con la presente invención contiene el compuesto de la invención y de ese modo tiene las mismas propiedades toxicológicas que el propio compuesto. Además, se ha de observar que la toxicidad del compuesto de la invención ya se ha evaluado para una administración oral; la toxicidad de una formulación inyectable no debería diferir dado que lo que se evalúa es la toxicidad de la propia molécula opcionalmente metabolizada en la sangre. Por lo tanto, la composición de la invención se puede usar y comercializar rápidamente como un fármaco.

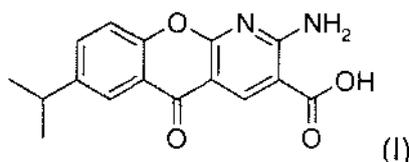
De acuerdo con una realización, la composición de acuerdo con la invención se puede inyectar. En este caso, el excipiente es líquido. La molécula activa se disuelve o se suspende en el excipiente. Sin embargo, la composición de acuerdo con la invención no se limita a este tipo de composición.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica como se ha descrito anteriormente en el

presente documento, que comprende además un agente de lectura a través. El agente de lectura a través es capaz de estimular la lectura de PTC. El PTC está alojado en el ARNm que proviene de la transcripción del gen que alberga dicha mutación sin sentido. Los inventores han observado un efecto sinérgico entre el compuesto de la invención y al menos una molécula de lectura a través de PTC particular.

5 De forma ventajosa, el agente de lectura a través es ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoico (PTC124 desvelado en el documento de Patente WO 2004/091502). Este agente de lectura a través no es muy eficaz y se tienen que administrar dosis elevadas a los pacientes (de 16 a 40 mg/kg/día). La sinergia entre este agente de lectura a través y el compuesto de acuerdo con la invención puede mejorar la actividad de dicho agente de lectura a través en algunos casos. Por lo tanto, son necesarias dosis inferiores de dicho agente de lectura a través.

Por lo tanto, otro aspecto de la invención se refiere a una combinación de (i) un compuesto de fórmula (I);



15 o una sal, solvato, clatrato, hidrato o polimorfo del mismo, y (ii) ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoico. Los agentes farmacéuticamente activos (i) y (ii) se pueden administrar de forma simultánea, secuencial o durante un periodo de tiempo.

20 Sin embargo, de acuerdo con la invención, también se puede mezclar o combinar cualquier otro agente de lectura a través con el compuesto de acuerdo con la presente invención o con la combinación PTC124/compuesto de Fórmula (I). De ese modo, este agente de lectura a través se incluye en la composición de acuerdo con la invención. El agente de lectura a través mencionado anteriormente también se puede determinar por separado con el fin de administrarse con la molécula de la invención, al mismo tiempo o de acuerdo con una administración retrasada.

25 El experto en la materia es capaz de determinar si una enfermedad está causada por una mutación sin sentido. Es posible, para una proteína dada, estudiar si dicha concentración de proteína es pertinente para la enfermedad. El experto en la materia es capaz de determinar si una enfermedad dada causada por una concentración demasiado baja de proteína es una enfermedad mediada por una mutación sin sentido siguiendo las etapas que se mencionan en lo sucesivo en el presente documento:

- Identificación del gen que codifica dicha proteína dada e identificación del ARNm que procede de la transcripción de dicho gen; y
- Comparación de los genes normales o los ARNm normales con los genes y los ARNm que provienen de un paciente que padece dicha enfermedad.

35 La presente invención también se refiere a un método para determinar si existe una mutación sin sentido alojada en un gen dado. Este gen dado se transcribe a ARNm. El ARNm transcrito alberga un PTC y codifica una proteína conocida dada. De acuerdo con el método de la presente invención,

- Las células del paciente se incuban con el compuesto o una composición de la invención con el fin de obtener síntesis de ARN;
- Los ARN y/o las proteínas sintetizados se extraen de las células y se purifican;
- Se realiza la transcripción inversa de los ARN y se amplifican con el fin de permitir la cuantificación de ARN.

45 En una realización, las células del paciente son células de un órgano que se piensa que está afectado por la mutación sin sentido o células diferenciadas de células madre pluripotentes inducidas producidas por el paciente. En otra realización, un aumento de la cantidad de los ARN y/o las proteínas purificados indica inhibición de NMD y/o lectura a través y por lo tanto la presencia de una mutación sin sentido.

50 Por lo tanto, el método de acuerdo con la invención permite determinar si una enfermedad genética está causada al menos parcialmente por una mutación sin sentido. Por lo tanto, esto permite el ajuste del tratamiento.

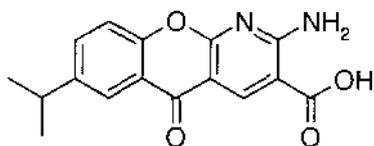
La presente invención, sus características y sus ventajas se explicarán basándose en los siguientes Ejemplos y Figuras, en las que:

- la Figura 1 muestra la actividad de inhibición de NMD de una composición de acuerdo con la presente invención en células HeLa, usando luciferasa de luciérnaga;
- la Figura 2 muestra la estabilización de ARNm de p53 en células Calu-6 (células que provienen de un paciente que padece un cáncer de pulmón genético mediado por una mutación sin sentido) frente a la concentración de molécula activa, obteniéndose dicha estabilización a través de la inhibición de NMD por parte de una composición de acuerdo con la invención;

- la Figura 3 es un gráfico que muestra la proporción de ARNm de p53/ARNm de GADPH frente a la concentración de molécula activa de una composición de acuerdo con la invención;
- la Figura 4 muestra la proteína p53 de longitud completa sintetizada en las células Calu-6 en presencia de una composición de acuerdo con la invención;
- 5 - la Figura 5 muestra la concentración de ARNm de MOR en células de cerebro de ratón frente a la concentración de compuesto activo en un modelo de ratón en el que el gen MOR alberga una mutación sin sentido;
- la Figura 6 muestra la sinergia entre la composición de la invención y PTC124 (agente de lectura a través de codón de terminación prematuro);
- la Figura 7 muestra ARNm de CFTR de células IB3 (células que provienen de un paciente que padece fibrosis quística mediada por una mutación sin sentido) incubadas con composiciones de acuerdo con la presente invención que tienen diferentes concentraciones de molécula activa;
- 10 - la Figura 8 muestra la concentración de ARNm de CFTR de células IB3 incubadas en presencia de una composición de acuerdo con la presente invención frente a la concentración de molécula activa de dicha composición;
- 15 - la Figura 9 muestra ARNm de p53 en células Calu-6 incubadas con tres composiciones diferentes, conteniendo cada composición 25 $\mu\text{mol/l}$ de compuesto activo de acuerdo con la invención;
- la Figura 10 muestra el efecto de respuesta a dosis del compuesto de la invención en flujo de salida de yoduro en células 6-CFSMEo (células que provienen de un paciente que padece fibrosis quística mediada por una mutación sin sentido); y
- 20 - las Figuras 11 a y b muestran el efecto de diversas dosis del compuesto de la invención en la expresión del gen de distrofina que contiene PTC en células DMD que provienen de un paciente que padece distrofia muscular de Duchenne mediada por una mutación sin sentido.

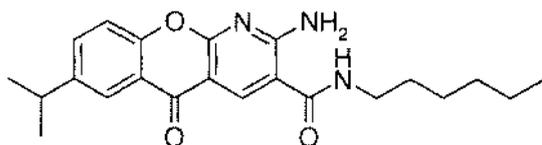
Ejemplos

- 25 En los siguientes ejemplos se hará referencia al compuesto de fórmula (I) como la molécula G07. También se usaron en los ensayos los compuestos relacionados G08 y G09.

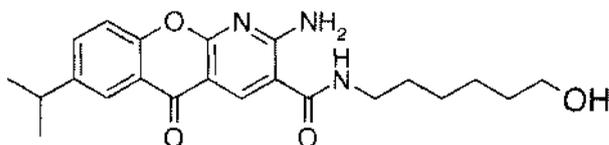


G07:

30



G08:



G09:

35 Ejemplo 1: determinación de la inhibición de NMD mediante el uso de luciferasa de luciérnaga

- La presencia de una de las siguientes proteínas UPF (UPF1, UPF2, UPF3 (también denominadas UPF3a) o UPF3X (también denominada UPF3b)) en la parte 3'UTR de un ARNm, activa NMD en este ARNm particular. Cuando una proteína UPF está situada corriente abajo de un codón de terminación normal, dicho codón de terminación normal se reconoce como un PTC. Por lo tanto, el ARNm que comprende la proteína UPF se degradará a través de NMD.
- 40

Se usó una línea celular HeLa que expresa luciferasa de luciérnaga. El ARNm de la luciferasa de luciérnaga alberga sitios de unión MS2 en el 3'UTR. Las células mencionadas anteriormente contienen además una proteína de fusión que consiste en dicha proteína MS2 y una de las cuatro proteínas UPF. La proteína de fusión permite la ubicación de

UPF corriente abajo del codón de terminación normal (es decir, en la parte 3'UTR de este ARNm). Por lo tanto, el codón de terminación normal se reconoce como un PTC. Por lo tanto, NMD se activa y degrada el ARNm de la luciferasa de luciérnaga.

5 La actividad de la luciferasa en las células mencionadas anteriormente está de ese modo directamente relacionada con la actividad de NMD. Una luminiscencia baja indica que NMD se activa y una luminiscencia elevada indica la inhibición de NMD. En presencia de G07, la actividad de luciferasa es mayor que en los pocillos de control. Esto muestra la actividad de inhibición de NMD de G07.

10 Las células HeLa se cultivaron en DMEM (Gibco) complementado con un 10% de FBS y que contenía 10 $\mu\text{mol/l}$ de G07.

Dado que G07 inhibe NMD independientemente del tipo de proteína UPF situada en el ARNm, G07 se puede considerar como un inhibidor general de NMD.

15 **Ejemplo 2: efecto beneficioso de G07 en células de un paciente que alberga cáncer de pulmón mediado por una mutación sin sentido**

20 Las células Calu-6 (ATCC) albergan un PTC UGA en el codón 196 del gen P53. Estas células Calu-6 se aislaron de un paciente con cáncer de pulmón. Se realizó la transcripción inversa de los ARN de dichas células Calu-6 y se amplificaron a través de PCR (RT-PCR) en presencia de un nucleótido con una marca radiactiva con el fin de medir los niveles de ARNm de P53 y ARNm de GAPDH (usándose GAPDH como un control de carga). Las células Calu-6 albergan una mutación sin sentido en el gen P53. Por lo tanto, el gen P53 no se expresa en las células Calu-6 debido a la actividad de NMD sobre el ARNm de P53. Los ARNm transcritos inversamente amplificados se cargaron sobre un gel de acrilamida y se sometieron a electroforesis. El gel de acrilamida se secó a continuación sobre papel de Whatman y se aplicó sobre un tamiz de fósforo (Kodak). Se usó un formador de imágenes Personal Molecular Imager (Bio-Rad) para cuantificar las especies radiomarcadas amplificadas. Las células Calu-6 se incubaron con concentraciones crecientes de G07 en DMSO durante aproximadamente veinte horas. Esto se llevó a cabo con el fin de confirmar la actividad de inhibición de NMD de G07. Después de la incubación, los ARN se purificaron mediante el uso de TriReagent (MRC) y a continuación se realizó la transcripción inversa a ADNc que se puede amplificar por PCR en presencia de un nucleótido radiomarcado. Los resultados correspondientes se muestran en la Figura 2.

35 La Figura 2 muestra un aumento de la cantidad de ARNm de P53 cuando la concentración de G07 aumenta. El ARNm de P53 se degrada normalmente a través de NMD. De ese modo, una cantidad en aumento de ARNm de P53 resulta de la estabilización del mismo. Por lo tanto, G07 parece tener una actividad de respuesta a dosis en el mecanismo de NMD. Este experimento confirma la actividad de inhibición de NMD de G07 y prueba además que G07 es capaz de inhibir NMD frente a un ARNm endógeno. El ARNm de GAPDH (gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa) se amplificó con el fin de normalizar la medición de ARNm de P53 entre dos carriles.

40 La Figura 3 muestra que cuanto mayor es la concentración de G07, mayor es la cantidad de ARNm de P53 en las células.

45 Además, G07 permite la síntesis de una proteína P53 truncada y una proteína P53 de longitud completa en las células Calu-6. De ese modo, G07 es diferente de las moléculas que se describen en el documento de Patente WO 2008/101935. En lo que respecta a las moléculas que se desvelan en el documento mencionado anteriormente, solo se ha detectado la proteína truncada. Este resultado se muestra en la Figura 4. Se cargaron extractos de proteína de células Calu-6 incubadas o no con G07 sobre un gel de electroforesis y a continuación se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa con el fin de detectar la proteína P53 después de incubación con un anticuerpo anti-P53 (un anticuerpo anti-P53 es un anticuerpo dirigido frente a la parte amino terminal de P53 (Santa Cruz)). El resultado obtenido se muestra en la Figura 4. De acuerdo con la Figura 4, cuando se incuban las células Calu-6 con G07 durante aproximadamente 20 horas, las células sintetizan proteínas P53 de longitud completa y truncadas.

55 La Figura 4 también muestra un análisis de la presencia de la proteína P21 con el fin de comprobar si la proteína P53 de longitud completa es funcional. Cuando se sintetiza la proteína P53, P53 activa la expresión de P21. El análisis de transferencia de Western muestra la presencia de P21 cuando se usan concentraciones de G07 en aumento (de 25 a 125 μM). De ese modo, la proteína P53 sintetizada gracias a G07 induce la expresión de P21 al igual que lo hace la proteína P53 WT. Por lo tanto, los Solicitantes han confirmado de ese modo que G07 permite la síntesis de una proteína P53 de longitud completa funcional.

60 Por lo tanto, G07 permite la síntesis de proteínas de longitud completa. G07 puede permitir la lectura a través de PTC. G07 también puede inhibir NMD en una etapa crítica de la misma permitiendo por lo tanto la síntesis de proteínas de longitud completa. La proteína de longitud completa sintetizada puede ser la proteína de tipo natural.

65 **Ejemplo 3: inhibición de NMD *in vivo***

En los ratones KIM, el gen MOR alberga una mutación sin sentido que activa NMD. El gen MOR se expresa en el

sistema nervioso central. Se inyectaron soluciones que contenían 0,2, 2 o 20 mg/kg de G07 (1Q, 2Q o 3Q respectivamente) disuelto en DMSO en ratones KIM. Un grupo de control consiste en animales tratados con DMSO puro. A continuación, se realizó la eutanasia de los animales 6, 24 o 32 horas después de la inyección. Los ARN extraídos de los homogenatos de cerebro se purificaron usando TriReagent (MRC) y a continuación se analizaron como se ha descrito por referencia a la Figura 2. La diferencia entre los experimentos que se han descrito por referencia a la Figura 2 es que en el caso presente los ARNm analizados son el ARNm que codifica el gen MOR y el ARNm que codifica el gen GAPDH usado como control para cuantificar el ARNm de MOR medido. Los primeros 3 pocillos de la izquierda corresponden a una dilución media de una muestra que proviene de un cerebro de ratón de tipo natural. Estos 3 pocillos se usaron para comprobar las condiciones de PCR para que sea cuantitativamente útil.

La Figura 5 muestra las mediciones de los niveles de ARNm de MOR y GAPDH (el último usado como control). Se usó la misma técnica que se ha descrito por referencia a la Figura 2 excepto por el hecho de que el ARN proviene de los cerebros de ratones KIM. Algunos de estos ratones KIM se inyectaron con G07.

Se observó una estabilización de ARNm de MOR después de 24 horas para las concentraciones 1Q y 2Q. Esto indica la inhibición de NMD. Por lo tanto, este experimento confirma la actividad de inhibición de NMD *in vivo* de G07.

Ejemplo 4: uso de G07 en combinación con un agente de lectura a través

PTC124 (ataluren o ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoico) es una molécula que activa la lectura a través. Esta molécula no tiene ninguna actividad de inhibición de NMD. Se incubaron células Calu-6 en DMSO como control (-), en soluciones en DMSO que contenían concentraciones en aumento de PTC124 y en soluciones en DMSO que contenían concentraciones en aumento de PTC124 y además G07 25 µM. Los extractos de proteína de estas células se prepararon 24 horas después del inicio de la incubación y se analizaron a través de transferencia de Western. De acuerdo con la transferencia de Western que se muestra en la Figura 6 (es decir, después de un tiempo de exposición muy corto) se puede observar proteína P53 de longitud completa solo en las células incubadas con un medio que contiene G07 y PTC124. De ese modo, las dos moléculas tienen un efecto sinérgico cuando se usan conjuntamente. La Figura 6 muestra que la incubación de las células Calu-6 en un medio que contiene una mezcla de PTC124 y G07 mejora la síntesis de proteína P53 de longitud completa. Esta mejora es más eficaz que la mejora obtenida para cada molécula usada por separado. De ese modo, existe una sinergia entre G07 y PTC124.

Ejemplo 5: inhibición de NMD en IB3 (modelo de fibrosis quística)

Las células IB3 albergan un PTC en la posición 1282 en lugar del codón de triptófano del gen CFTR.

Se incubaron células IB3 (ATCC) en soluciones en DMSO que contenían DMSO puro (como control) o concentraciones de G07 en aumento, respectivamente, durante 20 horas.

Los ARN obtenidos después de la incubación se purificaron y se llevó a cabo RT-PCR para medir la cantidad de ARNm de CFTR (que contiene un PTC) y la cantidad de ARNm de GAPDH (usado como control). Basándose en el promedio de la cantidad de ARNm de CFTR/cantidad de ARNm de GAPDH mostrado, los presentes inventores pueden concluir que existe un aumento de la estabilización del ARNm de CFTR. Este resultado se muestra en la Figura 7. Este resultado confirma la actividad de inhibición de NMD de G07 que ya se había observado en células Calu-6. Este experimento muestra la capacidad de G07 para inhibir NMD en diversos y diferentes tipos de células.

Como se muestra en la Figura 8, cuanto mayor es la concentración de G07 en el medio de cultivo, más estabilizado está el ARNm degradado normalmente a través de NMD.

Esto indica que la inhibición de NMD depende de la concentración de G07 en el medio de cultivo.

Ejemplo 6: actividad de inhibición de NMD de composiciones que contienen G07, G08 y G09, respectivamente

Se incubaron células Calu-6 con composiciones que contenían G07, G08 y G09 25 µM, respectivamente. Se llevó a cabo el mismo experimento que se ha descrito anteriormente por referencia a la confirmación de la inhibición de NMD en células Calu-6 con cada composición. Los resultados se muestran en la Figura 9. Cada composición 25 µM inhibe NMD y permite una estabilización del ARNm de P53 en células Calu-6.

Ejemplo 7: efecto de respuesta a dosis de G07 en flujo de salida de yoduro en células 6-CFSMEo⁻ (células que provienen de un paciente que padece fibrosis quística).

Las células 6-CFSMEo⁻ albergan un PTC en el lugar del codón 2 de glutamina del gen de CFTR.

Se sembraron células 6-CFSMEo⁻ en placas de 96 pocillos y se cargaron durante una noche con 10 mM del colorante fluoróforo sensible a haluros 6-metoxi-N-(3-sulfopropil)-quinolinio (SPG, Invitrogen). Las células se lavaron

dos veces con tampón de yoduro (NaI 135 mM, K₂HPO₄ 2,4 mM, KH₂PO₄ 0,6 mM, MgSO₄ 1 mM, CaSO₄ 1 mM, dextrosa 10 mM y Hepes 10 mM, pH 7,3) y a continuación se incubaron en tampón de yoduro durante 30 min. Después de que se midiera la fluorescencia basal durante 2 min, el tampón de yoduro se reemplazó con tampón de nitrato (con NaNO₃ 135 mM en lugar de NaI) que contenía 20 µM de forskolina y 200 µM de IBMX, y la fluorescencia se midió adicionalmente durante 10 minutos. Las intensidades de fluorescencia se midieron cada 15 segundos usando el lector de microplacas Tristar LB 941 (Berthold) equipado con un filtro de excitación de 340 nm y un filtro de emisión de 450 nm. La flecha en la Figura 10 muestra la adición de tampón nitrato que contenía 20 µM de forskolina y 200 µM de IBMX, como se ha explicado anteriormente. Las concentraciones de G07 usadas fueron 0,2 µM, 1 µM, 5 µM y 25 µM, respectivamente. El aumento en el flujo de salida de yoduro se muestra como el valor medio ± SEM de al menos cuatro ensayos independientes. Ft se refiere a la fluorescencia en el tiempo de lectura; F0 se refiere a la fluorescencia media antes de la adición del tampón de nitrato mencionado anteriormente que contenía 20 µM de forskolina y 200 µM de IBMX.

Basándose en los resultados que se muestran en la Figura 10, es evidente que G07 tiene un efecto de respuesta a dosis en células 6-CFSME⁻ y conduce a la síntesis de proteína CFTR funcional a partir de un gen CFTR que contiene PTC.

Ejemplo 8: efecto de G07 en la expresión del gen de distrofina que contiene PTC en células de un paciente que padece distrofia muscular de Duchenne mediada por una mutación sin sentido (es decir, células DMD)

En lo que respecta a los resultados de la Figura 11 a, se incubaron células DMD con cantidades crecientes de la molécula G07 o con DMSO como control. Los ARN se purificaron usando el reactivo RNazol (MRC) y se realizó la transcripción inversa usando Superscript II (Life technologies) y un hexámero aleatorio. Se llevó a cabo PCR usando CTP radiomarcado con el fin de amplificar el ADNc de distrofina o GAPDH. Los productos de amplificación se cargaron en gel de poliacrilamida al 5%. A continuación, el gel se secó y se expuso a un tamiz de fósforo con el fin de permitir la cuantificación de cada especie de amplificación mediante el formador de imágenes Personal Molecular Imager (Biorad).

En lo que respecta a los resultados de la Figura 11 b, se incubaron células DMD con cantidades crecientes de la molécula G07 o con DMSO como control. Los extractos de proteína de estas células se cargaron sobre SDS-PAGE al 10% y se transfirieron sobre una membrana de nitrocelulosa. La membrana de nitrocelulosa se expuso a continuación a un anticuerpo primario (un anticuerpo anti-distrofina elaborado frente a la parte amino de la proteína distrofina (Santa-Cruz), o un anticuerpo anti-tubulina con el fin de especificar la cantidad de proteína cargada en cada carril.

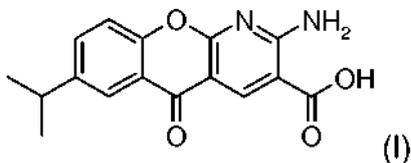
Las Figuras 11 a y b muestran que G07 es capaz de rescatar la expresión del gen de distrofina que contiene PTC en células que provienen de un paciente que padece distrofia muscular de Duchenne mediada por una mutación sin sentido.

Como se muestra en la Figura 11 a, las cantidades crecientes de G07 conducen a la estabilización del ARNm de distrofina. Este resultado se obtiene a través de RT-PCR. El máximo de eficacia se obtiene a una concentración de 5 µM.

Como se muestra en la Figura 11 b, las cantidades crecientes de G07 conducen a la síntesis de proteína distrofina (resultados obtenidos a través de transferencia de Western con un anticuerpo obtenido frente a la parte amino terminal de la proteína distrofina). El máximo de eficacia de G07 es 5 µM que es consistente con los resultados que se muestran en la Figura 11 a.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



5

o una sal, solvato, clatrato, hidrato o polimorfo del mismo para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad genética, siendo dicha enfermedad genética una enfermedad mediada por una mutación sin sentido.

10 2. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha enfermedad genética se elige entre las siguientes enfermedades genéticas: beta-talasemia mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Ehlers-Danlos mediado por una mutación sin sentido, epilepsia mioclónica grave de la infancia mediada por una mutación sin sentido, acromatopsia mediada por una mutación sin sentido, retinitis pigmentosa mediada por una mutación sin sentido, Síndrome de Usher de tipo 1C mediado por una mutación sin sentido, síndrome de pulgar-pie equinovaro aducido mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Alagille mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Alström mediado por una mutación sin sentido, deficiencia de antitrombina mediada por una mutación sin sentido, complejo de Carney mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Currarino mediado por una mutación sin sentido, anemia de Diamond-Blackfan mediada por una mutación sin sentido, protoporfiria eritropoyética mediada por una mutación sin sentido, enfermedad de Fabry mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de Factor XIII mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Fanconi-Bickel mediado por una mutación sin sentido, síndrome de olor a pescado mediado por una mutación sin sentido, enfermedad de Gaucher mediada por una mutación sin sentido, telangiectasia hemorrágica hereditaria mediada por una mutación sin sentido, homocistinuria mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Joubert mediado por una mutación sin sentido y trastornos relacionados, enfermedad de Krabbe mediada por una mutación sin sentido, aciduria L-2-hidroxiglutarica mediada por una mutación sin sentido, acidemia metilmalónica mediada por una mutación sin sentido, enfermedad de Niemann-Pick mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Peters plus mediado por una mutación sin sentido, enfermedad de Townes-Brocks mediada por una mutación sin sentido, enfermedad de von Willebrand mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Wiskott-Aldrich mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Kabuki mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Chanarin-Dorfman mediado por una mutación sin sentido, deficiencia de lecitina colesterol aciltransferasa/enfermedad de ojo de pez mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Marfan mediado por una mutación sin sentido, mucopolisacaridosis mediada por una mutación sin sentido, amiloidosis mediada por una mutación sin sentido, Lipofuscinosis neuronal ceroida infantil tardía mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de coenzima Q10 mediada por una mutación sin sentido, trastornos de la biogénesis peroxisomal mediados por una mutación sin sentido, trastornos de almacenamiento lisosomal mediados por una mutación sin sentido, cáncer colorrectal mediado por una mutación sin sentido, deficiencia congénita de enteropeptidasa mediada por una mutación sin sentido, Fibrosis quística mediada por una mutación sin sentido, Síndrome de Peutz-Jeghers húngaro mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Jervell y Lange-Nielsen mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Lynch mediado por una mutación sin sentido, enfermedad de inclusiones en microvellosidades mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Peutz-Jeghers mediado por una mutación sin sentido, xantineria mediada por una mutación sin sentido, Acidosis mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Alport mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Bardet-Biedl mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Birt-Hogg-Dubé mediado por una mutación sin sentido, enfermedad de Dent mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Gitelman mediado por una mutación sin sentido, leiomiomatosis hereditaria y cáncer de células renales mediados por una mutación sin sentido, esferocitosis hereditaria mediada por una mutación sin sentido, amaurosis congénita de Leber mediada por una mutación sin sentido, intolerancia a la proteína lisinúrica mediada por una mutación sin sentido, Nefronofitosis mediada por una mutación sin sentido, enfermedad del riñón poliquístico mediada por una mutación sin sentido, pseudohipoaldosteronismo mediado por una mutación sin sentido, hipodisplasia renal mediada por una mutación sin sentido, carcinoma de células renales con células claras esporádico mediado por una mutación sin sentido, cánceres de células renales papilares de tipo 2 mediados por una mutación sin sentido, Síndrome Urofacial mediado por una mutación sin sentido, enfermedad de von Hippel-Lindau mediada por una mutación sin sentido, tumor de Wilms mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Alport ligado al cromosoma X mediado por una mutación sin sentido, raquitismo hipofosfatémico ligado al cromosoma X mediada por una mutación sin sentido, nefropatía hiperuricémica (enfermedad juvenil/de riñón quístico medular) mediada por una mutación sin sentido, esclerosis tuberosa mediada por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico/síndrome nefrótico congénito mediado por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico de tipo finlandés mediado por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico 3 mediado por una mutación sin sentido resistente a esteroides, síndrome nefrótico/síndrome de Pierson mediado por una mutación sin sentido de inicio temprano, síndrome de Denys-Drash mediado por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico/displasia inmuno-ósea de Schimke mediado por una mutación sin sentido, resistencia primaria a glucocorticoides mediada por una mutación sin sentido, hipofosfatemia ligada al cromosoma X mediada por una

50
55
60

mutación sin sentido, hiperoxaluria primaria de tipo 1 mediada por una mutación sin sentido, pseudohipoaldosteronismo de tipo 1 mediado por una mutación sin sentido, acidosis tubular renal proximal mediada por una mutación sin sentido, Abetalipoproteinemia e Hipobetalipoproteinemia familiar homocigótica mediadas por una mutación sin sentido, síndrome de Alpers mediado por una mutación sin sentido, deficiencia de carbamoil fosfato sintetasa I mediada por una mutación sin sentido, Enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de citrina mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Dubin-Johnson mediado por una mutación sin sentido, protoporfiria eritropoyética mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de Factor V mediada por una mutación sin sentido, Enfermedad de almacenamiento de glucógeno mediada por una mutación sin sentido, Hemofilia A (deficiencia de factor VIII) mediada por una mutación sin sentido, Hemofilia B (deficiencia de factor IX) mediada por una mutación sin sentido, carcinoma hepatocelular mediado por una mutación sin sentido, Porfiria hepatoeritropoyética mediada por una mutación sin sentido, paraplejas espásticas hereditarias mediadas por una mutación sin sentido, Hipobetalipoproteinemia mediada por una mutación sin sentido, deficiencia hereditaria de factor XI mediada por una mutación sin sentido, diabetes de la edad madura presentada en la juventud mediada por una mutación sin sentido, anemia microcítica y deficiencia de hierro mediadas por una mutación sin sentido, Agotamiento de ADN Mitocondrial mediado por una mutación sin sentido, Síndrome de agotamiento de ADN Mitocondrial mediado por una mutación sin sentido, fenilcetonuria mediada por una mutación sin sentido, enfermedad del hígado poliúístico mediada por una mutación sin sentido, porfiria cutánea tarda mediada por una mutación sin sentido, colestasis intrahepática familiar progresiva mediada por una mutación sin sentido, enfermedad de Wilson mediada por una mutación sin sentido, hipercolesterolemia autosómica dominante mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de factor XII mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de factor X mediada por una mutación sin sentido, hipofibrinogenemia mediada por una mutación sin sentido, Afibrinogenemia mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de factor VII mediada por una mutación sin sentido, agammaglobulinemia mediada por una mutación sin sentido, trombocitopenia amegacariocítica mediada por una mutación sin sentido, anemia diseritropoyética de tipo II mediada por una mutación sin sentido, Distrofia muscular de Duchenne y Becker mediada por una mutación sin sentido, miopatías centronucleares mediadas por una mutación sin sentido, distrofia muscular de cintura o miopatía de Miyoshi mediada por una mutación sin sentido, enfermedad de Ullrich mediada por una mutación sin sentido, atrofia muscular espinal mediada por una mutación sin sentido, epidermólisis ampollar distrófica mediada por una mutación sin sentido, enfermedad de Hailey-Hailey mediada por una mutación sin sentido, epidermólisis ampollar articular de Herlitz mediada por una mutación sin sentido, y síndrome de Netherton mediado por una mutación sin sentido.

3. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha enfermedad genética se elige entre las siguientes enfermedades genéticas: abetalipoproteinemia e hipobetalipoproteinemia familiar homocigótica mediadas por una mutación sin sentido, síndrome de Alpers mediado por una mutación sin sentido, deficiencia de carbamoil fosfato sintetasa I mediada por una mutación sin sentido, enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de citrina mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Dubin-Johnson mediado por una mutación sin sentido, protoporfiria eritropoyética mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de Factor V mediada por una mutación sin sentido, Enfermedad del almacenamiento de glucógeno mediada por una mutación sin sentido, Hemofilia A (Deficiencia de factor VIII) mediada por una mutación sin sentido, Hemofilia B (Deficiencia de factor IX) mediada por una mutación sin sentido, carcinoma hepatocelular mediado por una mutación sin sentido, Porfiria hepatoeritropoyética mediada por una mutación sin sentido, paraplejas espásticas hereditarias mediadas por una mutación sin sentido, hipobetalipoproteinemia mediada por una mutación sin sentido, deficiencia hereditaria de factor XI mediada por una mutación sin sentido, Diabetes de la edad madura presentada en la juventud mediada por una mutación sin sentido, anemia microcítica y deficiencia de hierro mediadas por una mutación sin sentido, agotamiento de ADN mitocondrial mediado por una mutación sin sentido, síndrome de agotamiento de ADN mitocondrial mediado por una mutación sin sentido, fenilcetonuria mediada por una mutación sin sentido, enfermedad del hígado poliúístico mediada por una mutación sin sentido, porfiria cutánea tarda mediada por una mutación sin sentido, colestasis intrahepática familiar progresiva mediada por una mutación sin sentido, Enfermedad de Wilson mediada por una mutación sin sentido, hipercolesterolemia autosómica dominante mediada por una mutación sin sentido, Deficiencia de factor XII mediada por una mutación sin sentido, Deficiencia de factor X mediada por una mutación sin sentido, hipofibrinogenemia mediada por una mutación sin sentido, Afibrinogenemia mediada por una mutación sin sentido, y deficiencia de Factor VII mediada por una mutación sin sentido.

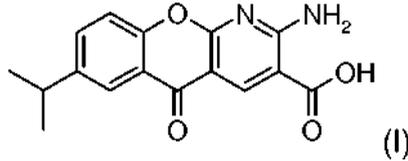
4. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha enfermedad genética se elige entre las siguientes enfermedades genéticas: acidosis mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Alport mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Bardet-Biedl mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Birt-Hogg-Dubé mediado por una mutación sin sentido, enfermedad de Dent mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Gitelman mediado por una mutación sin sentido, leiomiomatosis hereditaria y cáncer de células renales mediados por una mutación sin sentido, esferocitosis hereditaria mediada por una mutación sin sentido, amaurosis congénita de Leber mediada por una mutación sin sentido, intolerancia a la proteína lisinúrica mediada por una mutación sin sentido, nefronofitosis mediada por una mutación sin sentido, enfermedad del riñón poliúístico mediada por una mutación sin sentido, pseudohipoaldosteronismo mediado por una mutación sin sentido, hipodisplasia renal mediada por una mutación sin sentido, carcinoma de células renales con células claras esporádico mediado por una mutación sin sentido, cánceres de células renales papilares de tipo II mediados por una mutación sin sentido, Síndrome Urofacial mediado por una mutación sin sentido, enfermedad de von Hippel-Lindau mediada por una

- mutación sin sentido, tumor de Wilms mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Alport ligado al cromosoma X mediado por una mutación sin sentido, raquitismo hipofosfatémico ligado al cromosoma X mediado por una mutación sin sentido, Nefropatía hiperuricémica (enfermedad juvenil/de riñón quístico medular) mediada por una mutación sin sentido, Esclerosis tuberosa mediada por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico/síndrome nefrótico congénito mediado por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico de tipo finlandés mediado por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico mediado por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico 3 resistente a esteroides mediado por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico/síndrome de Pierson de inicio temprano mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Denys-Drash mediado por una mutación sin sentido, síndrome nefrótico/displasia inmuno-ósea de Schimke mediado por una mutación sin sentido, resistencia primaria a glucocorticoides mediada por una mutación sin sentido, hipofosfatemia ligada al cromosoma X mediada por una mutación sin sentido, hiperoxaluria primaria de tipo 1 mediada por una mutación sin sentido, pseudohipoadosteronismo de tipo 1 mediado por una mutación sin sentido, y acidosis tubular renal proximal mediada por una mutación sin sentido.
5. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha enfermedad genética se elige entre las siguientes enfermedades genéticas: cáncer colorrectal mediado por una mutación sin sentido, deficiencia congénita de enteropeptidasa mediada por una mutación sin sentido, fibrosis quística mediada por una mutación sin sentido, Síndrome de Peutz-Jeghers húngaro mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Jervell y Lange-Nielsen mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Lynch mediado por una mutación sin sentido, enfermedad de inclusiones en microvellosidades mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Peutz-Jeghers mediado por una mutación sin sentido, y xantineria mediada por una mutación sin sentido.
6. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha enfermedad genética se elige entre las siguientes enfermedades genéticas: beta-talasemia mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Ehlers-Danlos mediado por una mutación sin sentido, síndrome de pulgar-pie equinovaro aducido mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Alagille mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Alström mediado por una mutación sin sentido, deficiencia de antitrombina mediada por una mutación sin sentido, complejo de Carney mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Currarino mediado por una mutación sin sentido, anemia de Diamond-Blackfan mediada por una mutación sin sentido, protoporfiria eritropoyética mediada por una mutación sin sentido, enfermedad de Fabry mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de Factor XIII mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Fanconi-Bickel mediado por una mutación sin sentido, síndrome de olor a pescado mediado por una mutación sin sentido, telangiectasia hemorrágica hereditaria mediada por una mutación sin sentido, homocistinuria mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Joubert mediado por una mutación sin sentido y trastornos relacionados, enfermedad de Krabbe mediada por una mutación sin sentido, aciduria L-2-hidroxi-glutárica mediada por una mutación sin sentido, acidemia metilmalónica mediada por una mutación sin sentido, enfermedad de Niemann-Pick mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Peters plus mediado por una mutación sin sentido, enfermedad de Townes-Brocks mediada por una mutación sin sentido, enfermedad de Von Willebrand mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Wiskott-Aldrich mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Kabuki mediado por una mutación sin sentido, síndrome de Chanarin-Dorfman mediado por una mutación sin sentido, deficiencia de lecitina colesterol aciltransferasa/enfermedad de ojo de pez mediada por una mutación sin sentido, síndrome de Marfan mediado por una mutación sin sentido, mucopolisacaridosis mediada por una mutación sin sentido, amiloidosis mediada por una mutación sin sentido, lipofuscinosis neuronal ceroida infantil tardía mediada por una mutación sin sentido, deficiencia de coenzima Q10 mediada por una mutación sin sentido, trastornos de la biogénesis peroxisomal mediados por una mutación sin sentido, trastornos de almacenamiento lisosomal mediados por una mutación sin sentido, y acromatopsia mediada por una mutación sin sentido.
7. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha enfermedad genética se elige entre las siguientes enfermedades genéticas: retinitis pigmentosa mediada por una mutación sin sentido, Síndrome de Usher de Tipo 1C mediado por una mutación sin sentido, epidermólisis ampollar distrófica mediada por una mutación sin sentido, Enfermedad de Hailey-Hailey mediada por una mutación sin sentido, epidermólisis ampollar articular de Herlitz mediada por una mutación sin sentido, y síndrome de Netherton mediado por una mutación sin sentido.
8. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad genética, siendo dicha enfermedad genética una enfermedad mediada por una mutación sin sentido, comprendiendo dicha composición farmacéutica el compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 como molécula activa, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
9. La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicha composición se administra a través de inyección.
10. La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, que comprende además un agente capaz de mejorar la lectura a través del codón de terminación prematura de ARNm, proviniendo dicho codón de terminación prematura de ARNm de la traducción del gen que comprende la mutación sin sentido.
11. La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 10 en la que dicho agente es ácido 3-

[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoico.

12. La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en el que dicha enfermedad genética mediada por una mutación sin sentido es como se define en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7.

13. Una combinación de (i) un compuesto de fórmula (I):



10 o una sal, solvato, clatrato, hidrato o polimorfo del mismo, y (ii) ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoico.

14. Un método *ex vivo* para diagnosticar si un gen de un paciente alberga una mutación sin sentido, comprendiendo dicho método las etapas de:

- 15
- incubar dichas células del paciente con un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 o una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 8;
 - extraer los ARN y/o las proteínas sintetizados de dichas células del paciente, en el que una cantidad aumentada de los ARN y/o las proteínas purificados indica que el paciente alberga una mutación sin sentido.

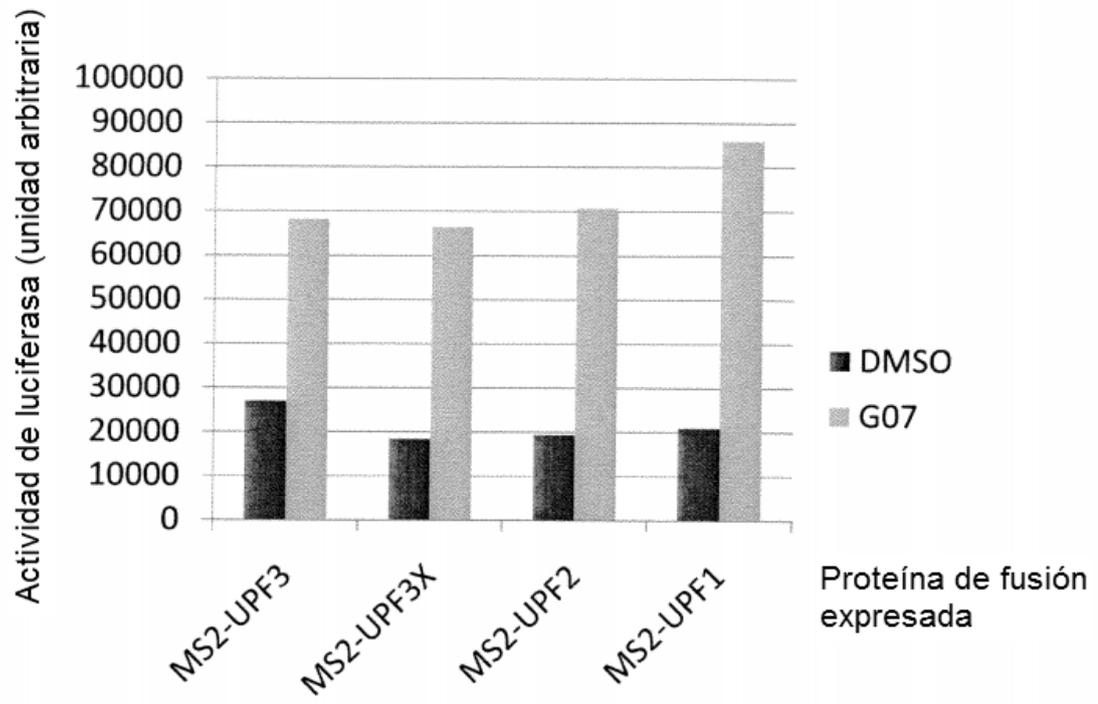


FIG.1

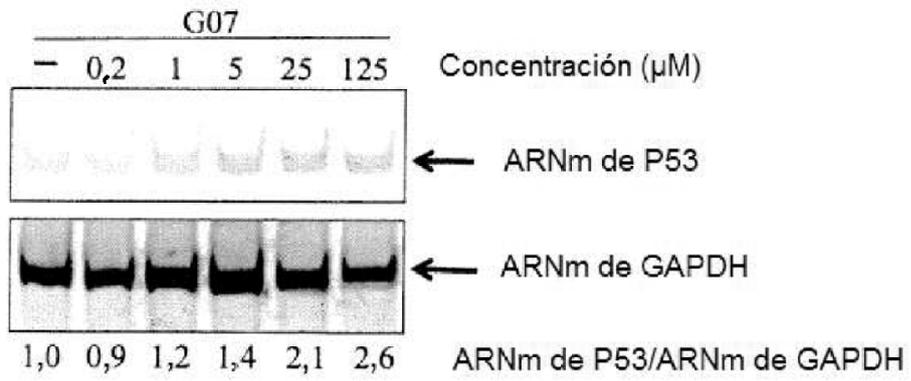


FIG.2.

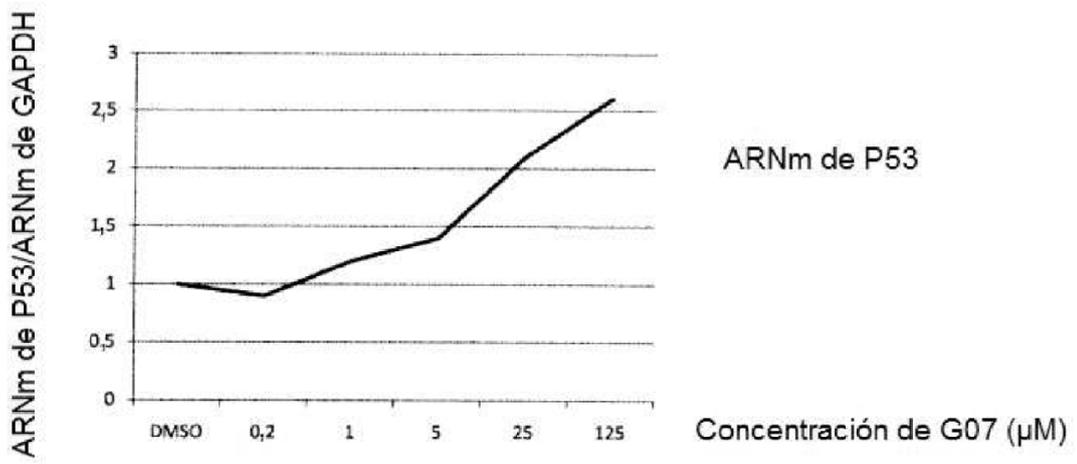


FIG.3.

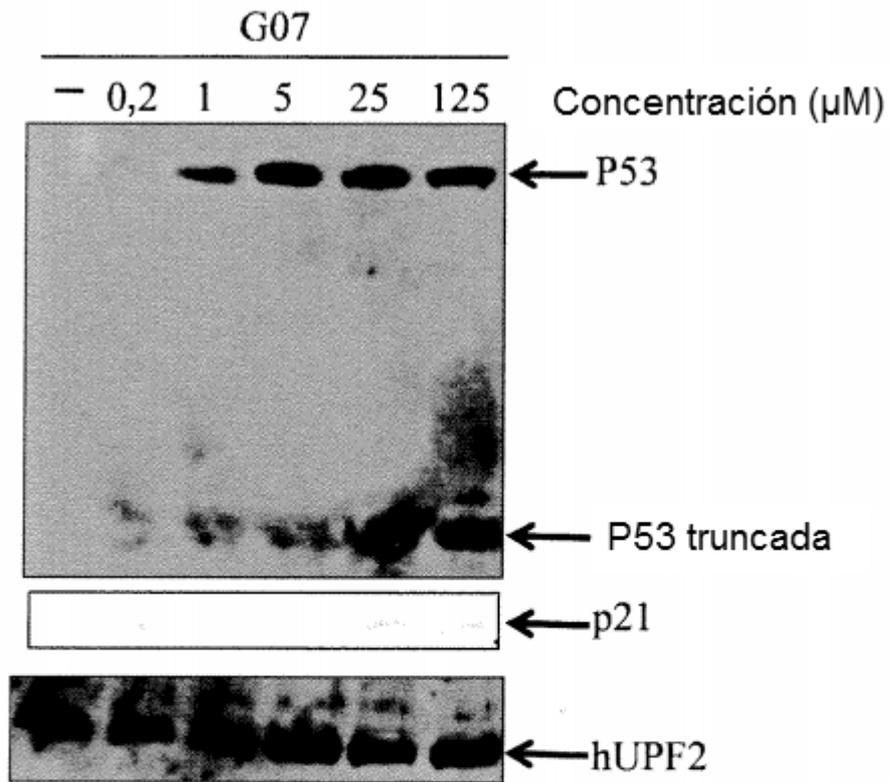


FIG.4.

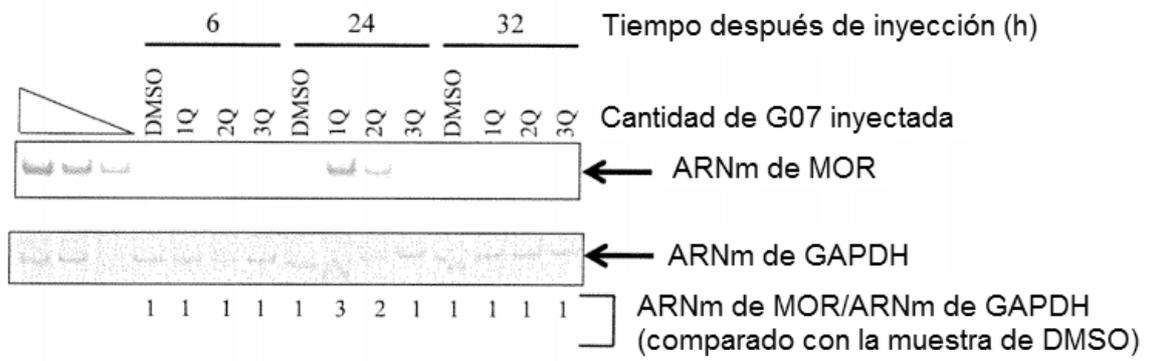


FIG.5.

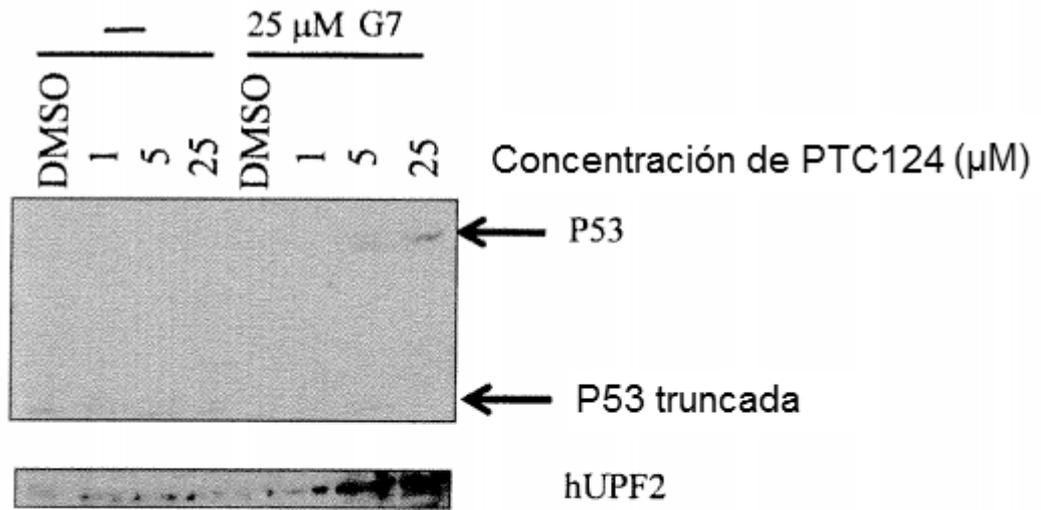


FIG.6.

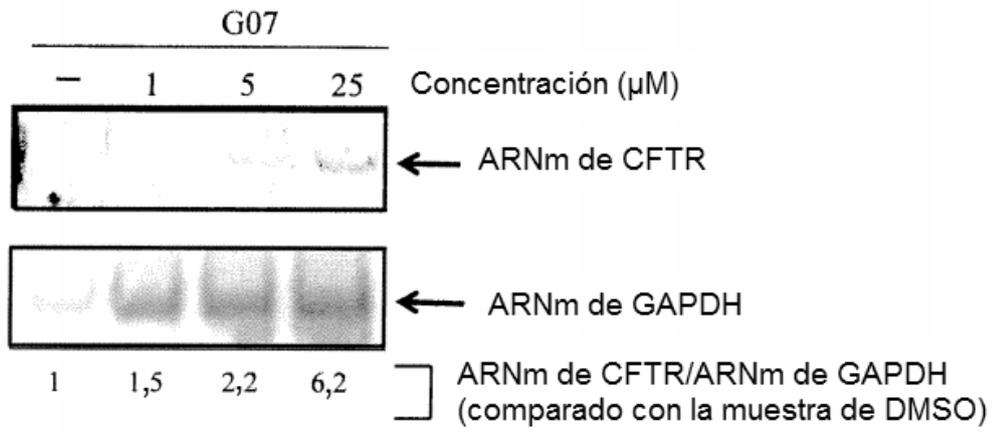


FIG.7.

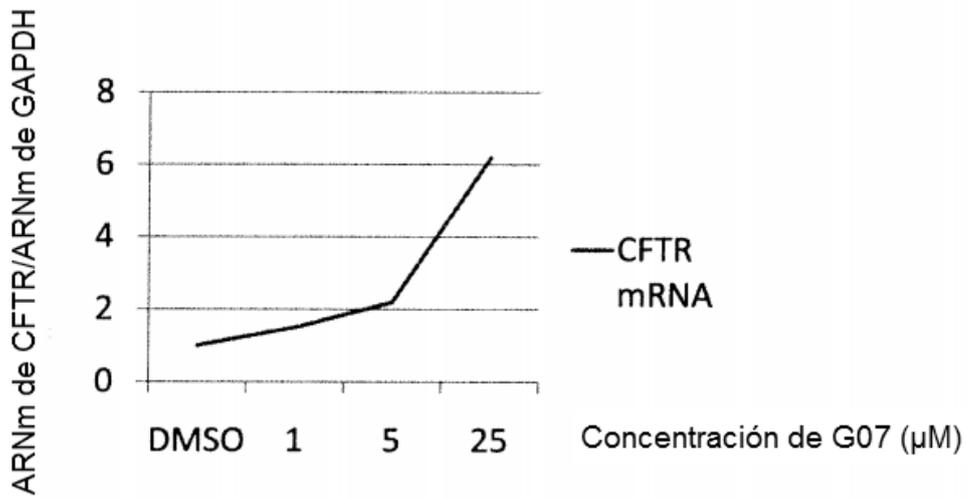


FIG.8.

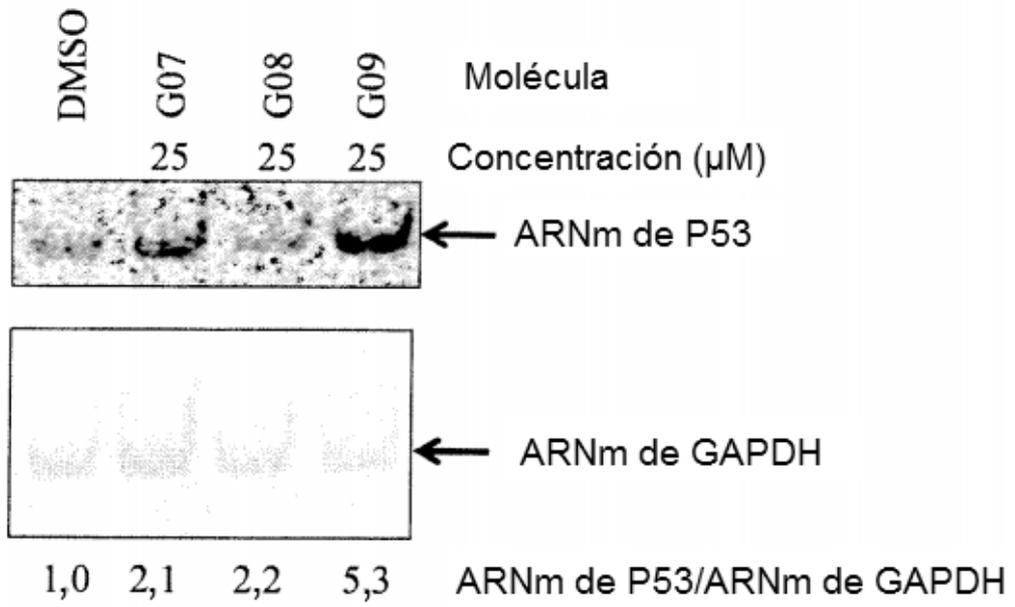


FIG.9.

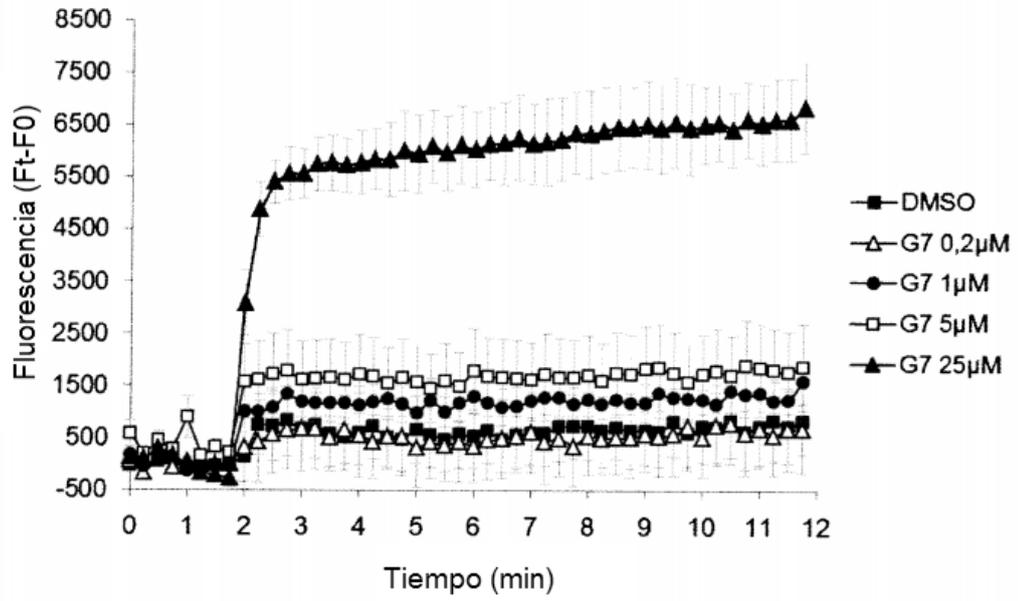


FIG.10

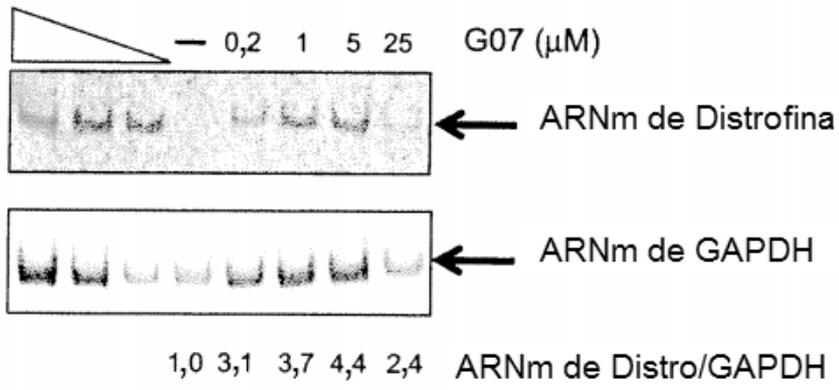


FIG. 11A

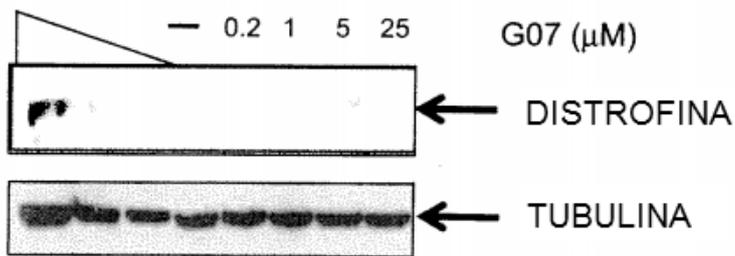


FIG. 11 B