

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 082**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/522** (2006.01)

**C07D 473/08** (2006.01)

**A61P 21/00** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.11.2015 PCT/EP2015/076547**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.05.2016 WO16075285**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.11.2015 E 15797925 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.09.2018 EP 3217985**

54 Título: **Compuestos para el tratamiento de la distrofia miotónica**

30 Prioridad:

**14.11.2014 EP 14382449**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**09.05.2019**

73 Titular/es:

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (33.3%)  
Avda. Blasco Ibáñez, 13  
46010 Valencia, ES;  
INSTITUT QUÍMIC DE SARRIÀ CETS FUNDACIÓ  
PRIVADA (33.3%) y  
INSTITUT UNIV. DE CIÈNCIA I TECNOLOGÍA, S.A.  
(33.3%)**

72 Inventor/es:

**ARTERO ALLEPUZ, RUBÉN;  
CASTELLS BOLIART, JOSEP;  
BORRELL BILBAO, JOSÉ IGNACIO;  
LLAMUSI TROÍSI, BEATRIZ;  
BARGIELA SCHÖNBRUNN, ARIADNA;  
KONIECZNY, PIOTR;  
PASCUAL GILABERT, MARTA;  
TEIXIDÓ CLOSA, JORDI;  
ESTRADA TEJEDOR, ROGER y  
LÓPEZ GONZÁLEZ, ALEJANDRO**

74 Agente/Representante:

**CASTELLS BOLIART, Josep**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 712 082 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

Compuestos para el tratamiento de la distrofia miotónica

5 Campo de la invención

10 **[0001]** La presente invención se refiere al campo de las enfermedades raras, en particular, la invención se refiere a la distrofia miotónica. Más particularmente, la presente invención se refiere a compuestos y composiciones que comprenden los mismos para uso en el tratamiento de la distrofia miotónica tipo 1 y tipo 2. La presente invención se refiere además a nuevos compuestos.

Antecedentes de la invención

15 **[0002]** La distrofia miotónica (DM) es la forma más común de distrofia muscular en adultos e incluye dos enfermedades clínicamente similares, aunque se originan a partir de mutaciones genéticas distintas. La DM1 (enfermedad de Steinert) corresponde a la mayoría de los casos de DM y deriva de una expansión de la repetición de trinucleótidos CTG (típicamente más de 50 unidades) en la región 3' no traducida (UTR) del gen *DMPK*, mientras que DM2 se origina de grandes expansiones del tetranucleótido CCTG en el primer intrón del gen *CNBP*. Ambas son enfermedades raras, con una prevalencia combinada global estimada en 12,5 por 100.000, aunque se ha sugerido que podría ser tres veces mayor (Suominen, T. et al. Population frequency of myotonic dystrophy: higher than expected frequency of myotonic dystrophy type 2 (DM2) mutation in Finland. *Eur J Hum Genet.* 19(7):776-82, 2011). DM1 es una enfermedad multisistémica que afecta ante todo a la musculatura esquelética (miotonía, debilidad muscular y degeneración), el corazón y el sistema nervioso central (Gomes-Pereira, M. et al. Myotonic dystrophy mouse models: towards rational therapy development. *Trends Mol Med.* 17(9):506-17 (2011)).

25 **[0003]** La gravedad de la enfermedad y la edad de inicio están relacionadas de manera crítica con el tamaño de la expansión. Mientras que en el inicio clásico del adulto el número aproximado de repeticiones es de 50 a <500, el inicio en la adolescencia es de 500 a <1000, el inicio en la infancia es de 1000 a <1500, y el inicio congénito es igual o superior a 1500. Debido a estas diferencias, actualmente no está claro si la patogenia de la DM1 congénita (CDM) es similar a la DM1 en adulto. De hecho, factores desconocidos explican las características únicas de CDM, como que no hay un modelo animal de DM1 que produzca un fenotipo típico de CDM (Campbell, et al. Congenital Myotonic Dystrophy *J. Neurol. Neurophysiol.* S7-001, XP055186364, 2012).

30 **[0004]** Las células que transportan pocas repeticiones CTG muestran un equilibrio funcional entre dos reguladores de corte y empalme ("splicing") antagonísticos: muscleblind tipo 1 (MBNL1) y miembro de la familia 1 del tipo CUGBP/Elav (CELF1). El equilibrio entre MBNL1 y CELF1 controla el establecimiento de perfiles de corte y empalme para adultos para un subconjunto de los transcritos regulados por el desarrollo. La expansión de la repetición CTG expresada en una célula de DM1 forma una estructura en tallo-bucle imperfecta de doble cadena que tiene dos consecuencias patológicas principales: secuestro de MBNL1 por foci de RNA e hiperfosforilación, estabilización y redistribución subcelular de CELF1 mediada por proteína quinasa C (PKC) y AKT. Como resultado del agotamiento de MBNL1 y la sobrerregulación de CELF1, se altera el equilibrio entre estos dos reguladores de corte y empalme y el empalme alternativo de una serie de transcritos regulados por el desarrollo vuelve a un patrón fetal. La expresión anormal de isoformas de corte y empalme en músculo esquelético, corazón y cerebro adulto probablemente contribuye a los síntomas de la enfermedad DM1. Mientras que MBNL1 parece crítico en fenotipos esquelético y cardíaco, se ha sugerido que el secuestro del parálogo MBNL2 origina síntomas cerebrales y MBNL3 puede inhibir la diferenciación muscular. Además de una regulación de empalme alternativo defectuosa, se ha observado que los déficits de traducción de proteínas, la traducción de ATG no asociada a repetición (traducción RAN) y la transcripción bidireccional del gen *DMPK*, la expresión alterada de microARNs, deficiencias de transcripción de genes, y la interferencia de ARN, entre otros, contribuyen a alteraciones moleculares típicas de DM en diferentes modelos celulares y animales de la enfermedad.

35 **[0005]** Una baja expresión de MBNL o una sobreexpresión de CELF1, o una combinación de ambas situaciones como existe en humanos con DM1 se manifiesta en una enfermedad multisistémica debido a las modificaciones de los factores de corte y empalme del ARN.

40 **[0006]** La DM1 es realmente una enfermedad multisistémica que afecta principalmente al músculo esquelético (miotonía, debilidad muscular y degeneración), el corazón y el sistema nervioso central (Gomes-Pereira, M. et al. Myotonic dystrophy mouse models: towards rational therapy development. *Trends Mol Med.* 17(9):506-17 (2011)). La gran variabilidad de los síntomas de DM1 y la edad de aparición resultan en tres formas clínicas principales de la enfermedad: aparición tardía, aparición clásica en adultos y DM1 congénita. La DM1 puede aparecer en pacientes de cualquier edad, mientras que la DM2 se presenta típicamente en adultos. Tanto los pacientes con DM1 como con DM2 también pueden considerarse como una persona que lleva la mutación CTG o CCTG expandida, respectivamente.

45 **[0007]** La miotonía (relajación muscular tardía después de la contracción inicial) y la pérdida progresiva de los músculos distales son características destacadas de la DM1 en el músculo esquelético. La forma congénita más grave de DM1 se caracteriza por hipotonía muscular general y dificultad respiratoria al nacer, así como retraso en el desarrollo motor.

50 **[0008]** Una gran proporción de los pacientes con DM1 sufren trastornos de la conducción cardíaca, detectados por electrocardiograma (ECG), y anomalías histológicas cardíacas. Las cardiopatías progresivas pueden evolucionar a un bloqueo atrioventricular completo o arritmias ventriculares y muerte súbita en casi el 30% de los pacientes. En particular, los problemas asociados con el sistema cardiopulmonar representan el 70% de las muertes debidas a DM1.

**[0009]** Las manifestaciones del SNC son altamente debilitantes y apoyan la opinión de que la DM1 también es un trastorno cerebral. La disfunción neuropsicológica en DM1 se acompaña de anomalías histológicas, así como cambios estructurales cerebrales y alteraciones en el metabolismo.

**[0010]** El impacto de la DM1 afecta aún más a una variedad de tejidos y da como resultado cataratas preseniles, tolerancia anormal a la glucosa e hiperinsulinismo, disfunción gastrointestinal y atrofia testicular. Ver Gomes-Pereira, M. et al. Myotonic dystrophy mouse models: towards rational therapy development. *Trends Mol Med.* 17(9):506-17 (2011).

**[0011]** Según la Fundación Myotonic Dystrophy Foundation (<http://myotonic.org>), la sintomatología de la distrofia Miotónica puede expresarse a través de los siguientes síntomas:

1. Músculo esquelético: miotonía, desgaste progresivo y debilidad, dolor, hipotonía general en la DM1 congénita
2. Corazón: defectos de la conducción cardíaca, intervalos PR prolongados, bloqueo auriculoventricular de primer grado, arritmias
3. Sistema nervioso central: hipersomnolencia, deterioro cognitivo, disfunción ejecutiva, déficits de memoria visual-espacial, cambios neuropsicológicos, retraso mental en la DM1 congénita
4. Músculo liso: complicaciones gastrointestinales, problemas para tragar, dolor abdominal, motilidad anormal, malabsorción, estreñimiento / diarrea, incontinencia anal
5. Sistema respiratorio: problemas respiratorios en los recién nacidos, infecciones pulmonares frecuentes, aspiración de alimentos o líquidos en vías respiratorias, incapacidad para respirar suficiente oxígeno, apnea del sueño
6. Sistema hormonal: hiperinsulinismo (diabetes), calvicie prefrontal masculina
7. Sistema inmunológico: hipogammaglobulinemia
8. Visión: cataratas subcapsulares iridiscentes prematuras y cataratas multicoloreadas, daño a la retina, párpados caídos (ptosis)
9. Sistema reproductivo: atrofia testicular, testículos pequeños, fertilidad reducida, bajo conteo de espermatozoides, bajo nivel de testosterona, mayor riesgo de aborto involuntario y muerte fetal, menopausia temprana, problemas con el embarazo y el parto, complicaciones en el recién nacido, más severo con cada generación ("anticipación")
10. Piel: mayor riesgo de tumor benigno de la piel (pilomatrixoma)

**[0012]** Las estrategias terapéuticas actuales se basan en fármacos candidatos que se unen a repeticiones CUG, liberando de esta manera proteínas MBNL para regular el corte y empalme de sus dianas pre-mRNA. Se ha demostrado que un aumento en la proteína MBNL1 libre reduce la gravedad de los síntomas en modelos animales de DM1, mientras que en contraste, se observa una disminución de la proteína MBNL1 libre con expansiones más largas, que se correlacionan con mayor severidad de la enfermedad. El papel patogénico del gen MBNL1 está aún más comprobado por el hecho de que las variantes del gen MBNL1 modifican la gravedad de DM1 (Vincent Huin et al. MBNL1 gene variants as modifiers of disease severity in myotonic dystrophy type 1. *J Neurol* (2013) 260:998-1003). Del mismo modo, se ha demostrado que las proteínas MBNL quedan secuestrados en la DM2, por lo tanto, estrategias dirigidas a aumentar los niveles de estado estable de estas proteínas tiene el potencial de convertirse en tratamientos para la DM2. Por tanto, la estrategia de consenso para revertir las anomalías de corte y empalme observadas en DM1 y DM2, entre otras alteraciones moleculares, se basa en una reducción en los focos nucleares y la reducción concomitante en el secuestro nuclear de proteínas MBNL. Warf y colaboradores (Warf, M., Nakamori, M., Matthys, C. Thornton, C. y Berglund, J. (2009) Pentamidine reverses the splicing defects associated with myotonic dystrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 18551-18556. Coonrod, L., et al. (2013) Reducing levels of toxic RNA with small molecules. *ACS Chem Biol.* 8(11):2528-37) demostraron que la pentamidina facilita un rescate parcial de la patología de DM1.

**[0013]** Desde entonces, se han descrito otras terapias, tales como compuestos de oligonucleótidos antisentido (véase, EP 2 560 001A2, US 2011/0269665 A1), análogos de pentamidina (véase, A., Haley, M., Thornton, C. et al. (2013) Reducing levels of toxic RNA with small molecules. *ACS chemical biology*, 8, 2528-2537; Parkesh, R., Childs-Disney, J., Nakamori, M., Kumar, A., Wang, E., Wang, T., Hoskins, J., Tran, T., Housman, D., Thornton, C. et al. (2012) Design of a Bioactive Small Molecule That Targets the Myotonic Dystrophy Type 1 RNA via an RNA Motif-Ligand Database and Chemical Similarity Searching. *Journal of the American Chemical Society*, 134, 4731-4742), péptidos (véase, EP 2 554 180 A1, Gareiss, P., Sobczak, K., McNaughton, B., Palde, P., Thornton, C. y Miller, B. (2008) Dynamic combinatorial selection of molecules capable of inhibiting the (CUG) repeat RNA-MBNL1 interaction in vitro: discovery of lead compounds targeting myotonic dystrophy (DM1). *Journal of the American Chemical Society*, 130, 16254-16261; Garcia-Lopez, A., Llamusi, B., Orzaez, M., Perez-Paya, E. y Artero, R. (2011) In vivo discovery of a peptide that prevents CUG-RNA hairpin formation and reverses RNA toxicity in myotonic dystrophy models. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 11866-11871), o candidatos a fármacos químicos (véase, US 8.754.084 B2, EP 2 742 974 A1, US 8.741.572 B1, US 2014/0051709 A1, Jahromi, A.H., Nguyen, L., Fu, Y., Miller, K.A., Baranger, A.M. y Zimmerman, S.C. (2013) A novel CUG(exp). MBNL1 inhibitor with therapeutic potential for myotonic dystrophy type 1. *ACS chemical biology*, 8, 1037-1043; Wong, C.H., Nguyen, L., Peh, J., Luu, L.M., Sanchez, J.S., Richardson, S.L., Tuccinardi, T., Tsoi, H., Chan, W.Y., Chan, H.Y. et al. (2014) Targeting Toxic RNAs that Cause Myotonic Dystrophy Type 1 (DM1) with a Bisamidinium Inhibitor. *Journal of the American Chemical Society*, 136, 6355-6361; Childs-Disney, J., Stepniak-Konieczna, E., Tran, T., Yildirim, I., Park, H., Chen, C., Hoskins, J., Southall, N., Marugan, J., Patnaik, S. et al. (2013) Induction and reversal of myotonic dystrophy type 1 pre-mRNA splicing defects by small molecules. *Nature communications*, 4, 2044; Hoskins, J.W., Ofori, L.O., Chen, C.Z., Kumar, A., Sobczak, K., Nakamori, M., Southall, N., Patnaik, S., Marugan, J.J., Zheng, W. et al. (2014) Lomofungin and dilomofungin: inhibitors of MBNL1-CUG RNA binding with distinct cellular effects. *Nucleic acids research*, 42, 6591-6602).

**[0014]** Se ha reportado que el medicamento genérico cardiovascular mexiletina, desarrollado inicialmente para tratar las anomalías del ritmo cardíaco, posee cierto potencial para tratar la rigidez muscular y otros síntomas de las miotonías no distróficas (NDM, por sus siglas en inglés). El bloqueo del canal de sodio inducido por mexiletina redujo la miotonía en

estudios pequeños (Stantland, JM, et al. Mexiletine for symptoms and signs of myotonia in nondystrophic myotonia: a randomized controlled trial, JAMA. 2012, 308(13), 1357-1365).

**[0015]** Por tanto, a pesar de que la DM1 fue descrita por primera vez en 1909, actualmente no existe cura o tratamiento específico para la distrofia miotónica. Todos los tratamientos aplicados son paliativos y contribuyen a controlar el desarrollo de un subgrupo de todo el gran grupo de síntomas, y el foco clínico es el manejo de las complicaciones de la enfermedad, pero en ningún caso para el tratamiento de la enfermedad de una manera definitiva.

**[0016]** Por lo tanto, existe una necesidad de compuestos y composiciones que puedan tratar la distrofia miotónica, en particular la distrofia miotónica tipo 1 y tipo 2, de una manera más efectiva.

**[0017]** Los presentes inventores sorprendentemente han encontrado que los compuestos descritos en este documento cubren esta necesidad existente. Además, los compuestos descritos en el presente documento se pueden encontrar de forma ventajosa directamente en los productos naturales o pueden sintetizarse fácilmente en unos pocos pasos químicos.

**[0018]** Algunos de los compuestos descritos en este documento son conocidos por los expertos en la técnica como derivados de xantina (conocidos colectivamente como xantinas o metilxantinas). Las xantinas metiladas (metilxantinas), incluyen la cafeína, aminofilina, IBMX, paraxantina, pentoxifilina, teobromina, y teofilina. Este grupo de alcaloides que actúan principalmente como bloqueadores de los receptores de adenosina, son comúnmente utilizados como estimulantes suaves y como broncodilatadores, particularmente en el tratamiento de los síntomas de asma. En contraste con otros estimulantes más potentes como las aminas simpaticomiméticas, las xantinas actúan principalmente para oponerse a la acción de la adenosina inductora del sueño, y aumentar la vigilancia en el sistema nervioso central. También estimulan el centro respiratorio, y se utilizan para el tratamiento de la apnea infantil y la apnea del prematuro (AOP). AOP es un problema común que afecta a los bebés prematuros, probablemente debida a un sistema respiratorio inmaduro. El tratamiento con metilxantinas es un pilar del tratamiento de la apnea central mediante la estimulación del sistema nervioso central y la función muscular respiratoria. La causa más común de apnea especialmente en los recién nacidos es la prematuridad, a la que los fármacos más comunes que se utilizan para tratar la apnea son los metilxantinas (Henderson-Smart et al Prophylactic methylxanthine for prevention of apnoea in preterm infants. Cochrane Database Syst Rev. 2010 Dec 8;(12):CD000432. doi: 10.1002/14651858.CD000432.pub2); cafeína (Buk et al, Cafeína Citrate for the Treatment of Apnea of Prematurity, *Pediatr Pharm.* 2008;14(6)), Teofilina (Scanlon et al. Cafeína or Teofilina for neonatal apnoea? *Arch Dis Child.* 1992 Apr; 67(4 Spec No): 425-428) y aminofilina (Larsen et al. Aminofilina versus Cafeína citrate for apnea and bradycardia prophylaxis in premature neonates. *Acta Paediatr.* 1995 Apr;84(4):360-4).

**[0019]** Queudeville M et al. "Kongenitale myotone Dystrophie mit Zwerchfellparese", *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 2012, vol. 160, No. 12, pp. 1236-1238, revela que la teofilina es capaz de mejorar la contractilidad del diafragma en niño que sufre de distrofia miotónica (DM).

**[0020]** Syr Lee et al. "Survival of a 30-week baby with congenital myotonic dystrophy initially ventilated for 55 days", *Journal of Paediatrics and Child Health*, 1999, Vol. 35, No. 3, pp. 313-314, describen el uso de teofilina para mejorar el esfuerzo respiratorio de un niño que sufre de DM.

**[0021]** M.A. Rutherford et al. "Congenital myotonic dystrophy: respiratory function at birth determines survival", *Archives of Disease in Childhood*, 1989, Vol. 64, N°2, pp.191-195, describe el uso de la aminofilina para mejorar los esfuerzos respiratorios en un niño que sufre de DM.

**[0022]** Keller C et al. "Congenital myotonic dystrophy requiring prolonged endotracheal and noninvasive assisted ventilation: not a uniformly fatal condition", *Pediatrics*, 1998, Vol. 101, No. 4, pp. 704-706, describen revela que la cafeína es capaz de mejorar el esfuerzo respiratorio de un niño que sufre de MD.

**[0023]** Toshio Itahara et al. en *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1994, 67, pp.203-209, reporta la preparación y estudio por RMN de 7,7'-alquenilbisteofilinas.

**[0024]** Los presentes inventores sorprendentemente han encontrado que las xantinas son capaces de aumentar la proteína MBNL1 libre en mioblastos de DM1 humanos. Se ha reportado que un aumento de la proteína MBNL1 libre reduce la gravedad de los síntomas en los modelos animales de DM1, mientras que por el contrario, se observa una disminución de la proteína MBNL1 libre con expansiones más largas, lo que se correlaciona con la enfermedad más grave. El papel patogénico del gen *MBNL1* se fundamenta además en el hecho de que las variantes del gen *MBNL1* modifican la gravedad de DM1 (Vincent Huin et al. *MBNL1 gene variants as modifiers of disease severity in myotonic dystrophy type 1.* *J Neurol* (2013) 260: 998-1003). Del mismo modo, se ha demostrado que las proteínas MBNL son secuestradas en DM2, por lo tanto, las estrategias destinadas a aumentar los niveles de estado estacionario de estas proteínas tienen el potencial de convertirse en tratamientos para la DM2.

**[0025]** No se encuentran referencias descritas en la literatura para el uso directo de estos compuestos para los fines aquí descritos.

#### Descripción resumida de la invención

**[0026]** Un primer aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), siempre que este compuesto no sea cafeína, para su uso en la reducción de la severidad de los síntomas de la distrofia miotónica tipo 1 o tipo 2 en un sujeto que sufre de la distrofia miotónica tipo 1 o tipo 2 mediante el aumento de la cantidad de proteína libre MBNL, donde dichos síntomas incluyen aquellos que afectan al corazón, sistema nervioso central, musculatura lisa, sistema hormonal, sistema inmunológico, la visión, el sistema reproductivo y la piel.

**[0027]** Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a composiciones que comprenden el compuesto de fórmula (I) para el uso tal como se describe en el presente documento.

[0028] Un tercer aspecto de la presente invención se refiere a nuevos compuestos que son dímeros de compuestos de fórmula (I).

## 5 Breve descripción de los dibujos

[0029]

10 Figura 1. Mediciones de polarización relativas a los valores de polarización de la sonda FAM (CUG) 23 sin compuesto. Cada uno de los compuestos indicados en el eje x, se probó a concentraciones crecientes (de 0,1 a 100 microM). Valores de polarización más altos indican una mayor capacidad de unión a las repeticiones. El gráfico de barras muestra las medias  $\pm$  SEM de tres experimentos independientes con tres repeticiones técnica cada una.

15 Figura 2. Las mediciones de polarización de la sonda 6-FAM-(CUG)23 en presencia de los compuestos indicados se representan en relación a las lecturas con la sonda sola. Cada uno de los compuestos en el eje x se ensayó a concentraciones crecientes. Valores de polarización más altos indican una mayor capacidad de unión a las repeticiones CUG. En comparación con un compuesto de control que no se une a repeticiones CUG, las moléculas de teofilina muestran una unión a repeticiones CUG que pueden variar desde una unión débil a una unión muy fuerte en el caso en el que está presente un enlazador alquilo de nueve carbonos (C9). El gráfico de barras muestra los resultados de tres experimentos independientes con cuatro réplicas técnicas de cada uno. Las barras de error son s.e.m.

20 Figura 3. Porcentaje de supervivencia de fibroblastos DM1 después de la administración de diferentes concentraciones de compuestos en el medio. Los valores de supervivencia se normalizan a los fibroblastos DM1 no tratados que tienen 100% de supervivencia. En todos los casos, los compuestos se disolvieron en DMSO, a continuación, las células tratadas únicamente con DMSO se consideran los controles más apropiados para la comparación. Gráfico de barras que muestra las medias  $\pm$  SEM de tres experimentos independientes.

25 Figura 4. Número promedio de foci ribonucleares por célula en fibroblastos de DM1 expuestos a las concentraciones indicadas de compuestos en el medio de cultivo. La teofilina-C7 y la teofilina-C9 disminuyeron ambas significativamente el número de focos por célula. \*\* Indica el valor de  $p < 0,001$ , \*\*\* indica valor de  $p < 0,0001$ . Los datos provienen de tres experimentos independientes con tres réplicas técnicas de cada uno. La barra DMSO muestra el valor de referencia para los fibroblastos de DM1 expuestos a diluyente solo. Las barras de error son s.e.m.

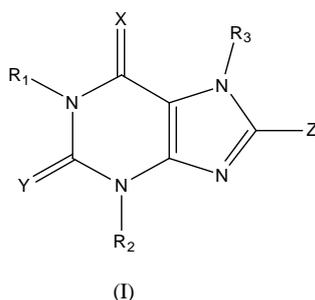
30 Figura 5. Efecto de los compuestos sobre el número de foci por célula en los fibroblastos de DM1. Los gráficos de barras muestran la media  $\pm$  SEM número foci por núcleos en fibroblastos de DM1 que habían sido tratados a 100 microM de los compuestos (1-10) o disolvente (DMSO) durante un día. La línea roja horizontal marca el valor de referencia de las células de control tratadas únicamente con DMSO. \*  $P < 0,05$  (t - test).

35 Figura 6. Cuantificación de la intensidad de expresión de Mbl en los núcleos. Los gráficos de barras muestran la media  $\pm$  SEM de la intensidad de tinción de Mbl en núcleos de mioblastos de DM1 que habían sido tratados con diferentes concentraciones de compuestos (de 1 microM a 100 microM) o disolvente (DMSO) durante un día. La línea roja horizontal marca el valor de referencia de las células de control tratadas únicamente con DMSO. En comparación con la célula tratada con DMSO, todos los compuestos fueron capaces de aumentar significativamente la intensidad de Mbl en los núcleos de los mioblastos de DM1, especialmente los compuestos 6, 7, 8 y 9 en 1microM. \*  $P < 0,05$  (t-test).

40 Figura 7. Cuantificación de agregados de Mbl en foci ribonucleares. Los gráficos de barras muestran la media  $\pm$  SEM de agregados de Mbl formadores de foci en mioblastos de DM1 que habían sido tratados a una concentración 1microM de compuestos o disolvente (DMSO) durante un día. La línea roja horizontal marca el valor de referencia de las células control tratadas únicamente con DMSO. En comparación con la pentamidina, que se utilizó como control positivo, todos los compuestos disminuyen el número de foci de Mbl en un grado similar que la pentamidina. \*  $P < 0,05$  (t-test).

## 45 Descripción detallada de la invención

50 [0030] La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I)



en el que:

R<sup>1</sup> es hidrógeno o una cadena alquilo opcionalmente sustituida;

5 R<sup>2</sup> es hidrógeno; una cadena alquilo opcionalmente sustituida; o un alqueniilo opcionalmente sustituido;

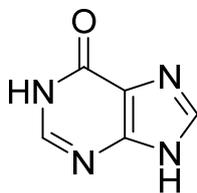
10 R<sup>3</sup> es hidrógeno; una cadena alquilo opcionalmente sustituida; o un enlazador unido a otro compuesto de fórmula (I) a través de N-7, donde N-7 es el átomo de N unido a R<sub>3</sub> en la estructura de fórmula (I), en el que el enlazador se selecciona entre un alquilo opcionalmente sustituido, un arilo opcionalmente sustituido, o un alquilarilalquilo opcionalmente sustituido;

X es O;

15 Y es O;

Z es hidrógeno; una cadena alquilo opcionalmente sustituida; o OH;

o un derivado de dicho compuesto de fórmula (I) representado por la fórmula:



20

siempre que este compuesto de fórmula (I) no sea cafeína,

25 para utilizar en la reducción de la severidad de los síntomas de la distrofia miotónica tipo 1 o tipo 2 en un sujeto que sufre de la distrofia miotónica tipo 1 o tipo 2 mediante el aumento de la cantidad de proteína libre MBNL, dichos síntomas que incluyen las que afectan al corazón, sistema nervioso central, musculatura lisa, sistema hormonal, sistema inmunológico, la visión, el sistema reproductivo y la piel.

30 **[0031]** La cafeína se ha excluido y ha sido objeto de la solicitud copendiente EP14382450 porque se ha observado que este compuesto particular actúa a través de un mecanismo de acción diferente y se encontró adecuado explicar cómo actúa este compuesto en una aplicación diferente.

35 **[0032]** Un experto en la materia reconocerá fácilmente que, cuando los miembros se agrupan juntos de una manera común, tal del grupo individualmente y todos los subgrupos posibles del grupo principal. Además, a todos los efectos, la invención abarca no sólo el grupo principal, sino también el grupo principal en ausencia de uno o más de los miembros del grupo. Por consiguiente, la invención prevé la exclusión explícita de uno cualquiera o más de los miembros de un grupo mencionado. En consecuencia, pueden aplicarse condicionantes a cualquiera de las categorías o realizaciones como en un grupo de Markush, la invención abarca no sólo todo el grupo indicado como un conjunto, sino cada miembro descrito, mediante las cuales se pueden excluir uno o más de los citados elementos, especies o realizaciones, de dichas categorías o realizaciones, por ejemplo, tal como se utiliza en una limitación negativa explícita.

40 **[0033]** Además, cuando un grupo de sustituyentes se da a conocer en el presente documento, se entiende que todos los miembros individuales de ese grupo y todos los subgrupos, incluyendo cualquier isómero, enantiómero y diastereómero de los miembros del grupo, se describen por separado. Cuando se utiliza un grupo Markush u otra agrupación en el presente documento, todos los miembros individuales del grupo y todas las combinaciones y subcombinaciones posibles del grupo pretenden ser incluidas individualmente en la descripción. Cuando se describe en  
45 el presente documento un compuesto de tal manera que no se especifica un isómero, enantiómero, o diastereómero determinado del compuesto, por ejemplo, en una fórmula o un nombre químico, la descripción pretende incluir cada isómero y cada enantiómero del compuesto descrito individualmente o en cualquier combinación. Además, a menos que se especifique lo contrario, todas las variantes isotópicas de los compuestos descritos en este documento pretenden ser abarcadas por la descripción.

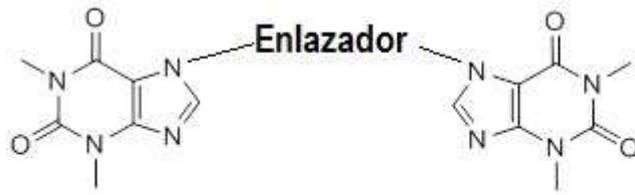
50 **[0034]** Las moléculas descritas en este documento pueden contener uno o más grupos ionizables (grupos de los que se pueden extraer o añadir o que se pueden cuaternizar (por ejemplo, aminas)). Todas las posibles formas iónicas de dichas moléculas y sales de las mismas pretenden ser incluidas individualmente en la presente descripción.

**[0035]** En una realización particular, dicho compuesto está en forma de tautómero, solvato, hidrato, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o formando oligómeros, preferiblemente dímeros.

55 **[0036]** En una realización preferida del compuesto de fórmula (I), R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> son cada uno independientemente entre sí H o Me, siempre que este compuesto no sea cafeína (R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = R<sup>3</sup> = CH<sub>3</sub>).

**[0037]** En otra realización preferida del compuesto de fórmula (I), R<sup>3</sup> es un enlazador tal como se define anteriormente formando compuestos mostrados a continuación:

5

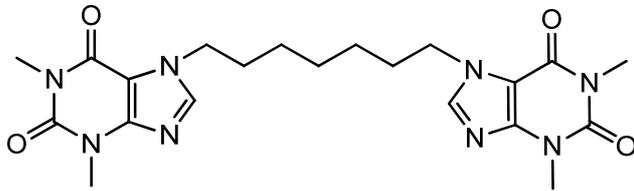


10

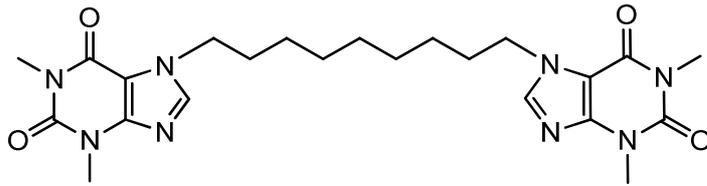
en el que el N al que está unido el enlazador se define como N-7.

15

[0038] En otra realización preferida, dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en teofilina, teobromina, aminofilina, xantina, hipoxantina, 1,7-dimetilxantina, 3-isobutil-1-metilxantina, 3-metilxantina, 3-etil-1-propilxantina, 3-ali-1-etil-8-hidroxi-xantina, 3,8-dimetil-2-tioxantina, 1-etil-3-isobutilxantina,

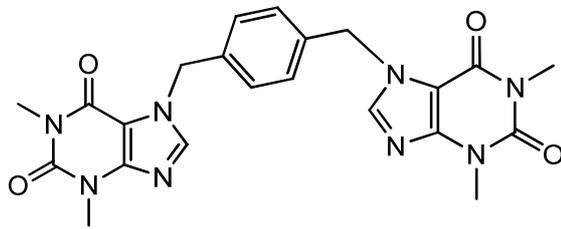


A

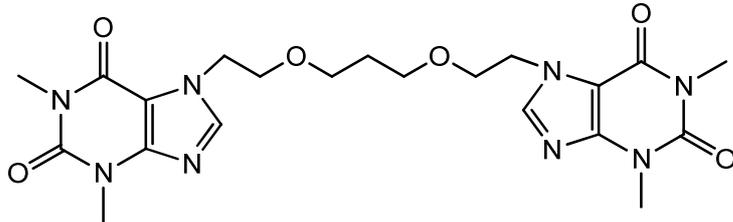


B

20

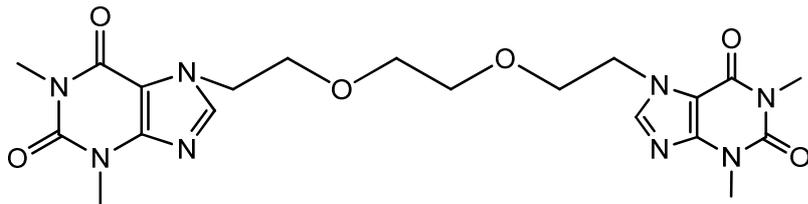


C



D

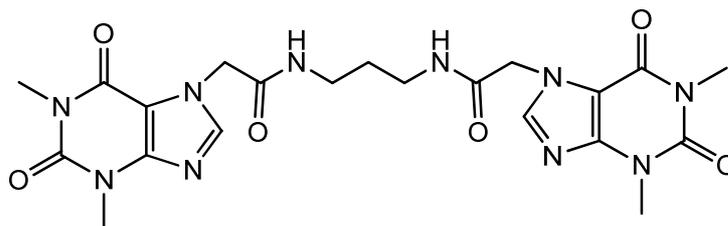
25



E

30

y



F

[0039] Tal como se utiliza anterior y posteriormente, se aplican las siguientes definiciones a menos que se indique lo contrario.

5 [0040] El término halo o halógeno es genérico para fluoro, cloro, bromo y yodo.

[0041] El término "oligómeros", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a moléculas complejas que consisten en varias unidades monoméricas, por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrámeros, etc. Los oligómeros pueden estar compuestos de homomonómeros, cuando las dos moléculas son idénticas (por ejemplo, A-A) o heteromonómeros cuando no lo son (por ejemplo, A-B). Particularmente preferidos son dímeros, que consisten en dos unidades monoméricas unidas por enlaces covalentes en forma de compuesto (I)-enlazador-compuesto (I), o por interacciones intermoleculares o intramoleculares. Los dímeros unidos por enlace covalente se unen preferiblemente a través de su correspondiente N-7.

[0042] El término "alquilo", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a cualquier hidrocarburo lineal, ramificado o cíclico en el que todos los enlaces carbono-carbono son enlaces simples.

15 [0043] El término "alqueno", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a cualquier alquilo lineal, ramificado o cíclico con al menos un doble enlace carbono-carbono.

[0044] Además, el término "alquino", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a cualquier alquilo o alqueno lineal, ramificado o cíclico con al menos un triple enlace carbono-carbono.

20 [0045] El término "cicloalquilo" se refiere a grupos alquilo cíclicos que tienen un solo anillo cíclico o múltiples anillos condensados. El cicloalquilo puede estar no sustituido o sustituido. El grupo cicloalquilo puede incluir opcionalmente uno o más citas de insaturación.

[0046] El término "polihaloC1-6alquilo", como grupo o parte de un grupo, por ejemplo, en polihaloC1-6alcoxi, se define como C1-6alquilo sustituido con monohalógeno o polihalógeno, en particular C1-6alquilo sustituido con hasta uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más átomos de halógeno, tales como metilo o etilo con uno o más átomos de flúor, por ejemplo, difluorometilo, trifluorometilo, trifluoroetilo. Se prefiere trifluorometilo. También se incluyen grupo perfluoroC1-6alquilo, que son grupos C1-6alquil en los que todos los átomos de hidrógeno están sustituidos por átomos de flúor, por ejemplo, pentafluoroetilo. En el caso en que más de un átomo de halógeno esté unido a un grupo alquilo en la definición de polihaloC1-6alquilo, los átomos de halógeno pueden ser iguales o diferentes.

30 [0047] Tal como se utiliza en el presente documento "C1-4alquilo" como un grupo o parte de un grupo define radicales de hidrocarburos saturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 4 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-butilo, 2-metil-1-propilo; "C1-6alquilo" abarca radicales C1-4alquilo y los homólogos superiores de los mismos que tienen 5 ó 6 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, 1-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 2-metil-1-butilo, 2-metil-1-pentilo, 2-etil-1-butilo, 3-metil-2-pentilo, y similares. Entre los destacados entre C1-6alquilo está C1-4alquilo.

35 [0048] El término "C2-6alqueno" como un grupo o parte de un grupo define radicales de hidrocarburos de cadena lineal o ramificada que tienen enlaces carbono-carbono saturados y un doble enlace, y que tienen de 2 a 6 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, etenilo (o vinilo), 1-propenilo, 2-propenilo (o alilo), 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, 2-metil-2-propenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 4-hexenilo, 2-metil-2-butenilo, 2-metil-2-pentenilo y similares.

40 [0049] C3-7cicloalquilo es genérico para ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

[0050] C1-6alcoxi significa C1-6alquilo en el que C1-6alquilo es tal como se define anteriormente.

[0051] El término "alquilcicloalquilalquilo" significa un grupo alquilo sustituido por un grupo alquilcicloalquilo. "Alquilcicloalquilo" significa un grupo cicloalquilo sustituido con al menos un grupo alquilo.

45 [0052] El término "alquilcicloalquenalquilo" significa un alquilo sustituido por un grupo alquilcicloalqueno. "Alquilcicloalqueno" significa un grupo cicloalquilo sustituido con al menos un grupo alqueno.

[0053] El término "alquilcicloalquilalquino" significa un grupo alquilo sustituido por un grupo alquilcicloalquino. "Alquilcicloalquino" significa un grupo cicloalquilo sustituido con al menos un grupo alquino.

[0054] El término "alquilcicloalquenalquilo" significa un grupo alquilo sustituido por un grupo alquenalquilo. "Alquilcicloalqueno" significa un grupo cicloalqueno sustituido con al menos un grupo alquilo.

50 [0055] El término "alquilcicloalquenalquilo" significa un grupo alquilo sustituido por un grupo alquenalquilo. "Alquilcicloalqueno" significa un grupo cicloalqueno sustituido con al menos un grupo alquilo.

[0056] El término "alquilarilalquilo", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilarilo unido al resto molecular parental a través de un grupo alquilo.

55 [0057] El término "alquilarilalqueno" significa un alquilo sustituido por un grupo arilalqueno. "Arilalqueno" significa un grupo arilo con un grupo alqueno.

[0058] El término "alquilarilalquino" significa un alquilo sustituido por un grupo arilalquino. "Arilalquino" significa un grupo arilo con un grupo alquino.

**[0059]** El término "alquilheterocicloalquilo," tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilheterociclo unido al resto molecular parental a través de un grupo alquenilo. "Heterocicloalquilo" significa un grupo heterociclo con un grupo alquilo.

**[0060]** El término "alquilheterocicloalquenilo," tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilheterociclo unido al resto molecular parental a través de un grupo alquenilo. "Heterocicloalquenilo" significa un grupo heterociclo con un grupo alquenilo.

**[0061]** El término "alquilheterocicloalquinilo," tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilheterociclo unido al resto molecular parental a través de un grupo alquenilo. "Heterocicloalquinilo" significa un grupo heterociclo con un grupo alquinilo.

**[0062]** El término "arilo" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier grupo hidrocarburo aromático derivado de la eliminación de al menos un átomo de hidrógeno de un solo átomo de carbono de un sistema de anillo aromático parental. El grupo arilo puede tener de 6 a 30 átomos de carbono. El grupo arilo puede tener un solo anillo (por ejemplo fenilo) o múltiples anillos condensados (fusionados), en los que al menos un anillo es aromático. Los grupos arilo típicos incluyen, pero sin limitación, radicales derivados de benceno, naftaleno, antraceno, bifenilo, y similares. El arilo puede estar no sustituido u opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre halógeno, hidroxilo, nitro, ciano, carboxilo, C1-6alquilo, C1-6alcoxi, C1-6alcoxiC1-6alquilo, C1-6alquilcarbonilo, amino, mono- o diC1-6alquilamino, azido, mercapto, polihaloC1-6alquilo, y polihaloC1-6alcoxi. El término "alcarilo" se emplea cuando un grupo arilo está unido covalentemente a un alquilo, alquenilo, o alquinilo.

**[0063]** El término "heteroarilo" se refiere a un sistemas de anillos monocíclico, bicíclico, o tricíclico, que contienen uno, dos, o tres anillos aromáticos y que contiene al menos un átomo de nitrógeno, oxígeno, o azufre en un anillo aromático. El heteroarilo puede estar no sustituido o sustituido, por ejemplo, con uno o más sustituyentes. Un grupo heterociclo puede contener también un grupo oxo (=O) o un grupo tioxo (=S) unido al anillo.

**[0064]** El término "heterociclo" se refiere a un sistema de anillo saturado o parcialmente insaturado, que contiene al menos un heteroátomo seleccionado del grupo de oxígeno, nitrógeno, silicio y azufre, y opcionalmente sustituido con uno o más grupos tal como se definen para el término "sustituido".

**[0065]** El término "enlazador" se refiere a un espaciador de reticulación que se utiliza para unir dos moléculas para conformar un dímero. Los enlazadores preferidos se seleccionan entre un alquilo opcionalmente sustituido, un alquenilo opcionalmente sustituido, un alquinilo opcionalmente sustituido, un cicloalquilo opcionalmente sustituido, un cicloalquenilo opcionalmente sustituido, un cicloalquinilo opcionalmente sustituido, un alquilcicloalquilalquilo opcionalmente sustituido, un alquilcicloalquilalquenilo opcionalmente sustituido, un alquilcicloalquilalquinilo opcionalmente sustituido, un alquilcicloalquenilalquilo opcionalmente sustituido, un alquilcicloalquinilalquilo opcionalmente sustituido, un arilo opcionalmente sustituido, un alquilarilalquilo opcionalmente sustituido, un alquilarilalquenilo opcionalmente sustituido, un alquilarilalquinilo opcionalmente sustituido, un heterociclo opcionalmente sustituido, un alquilheterocicloalquilo opcionalmente sustituido, un alquilheterocicloalquenilo opcionalmente sustituido, un alquilheterocicloalquinilo opcionalmente sustituido.

**[0066]** El término "sustituido" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una sustitución de un átomo o grupo químico (por ejemplo, H, NH<sub>2</sub>, u OH) por un grupo funcional, el "sustituyente", y los sustituyentes particularmente contemplados incluyen grupos nucleofílicos. El sustituyente puede ser uno de una selección de grupos indicados, o puede ser un grupo adecuado conocido por los expertos en la materia, siempre que supere la valencia normal de los átomos sustituidos, y que la sustitución dé lugar a un compuesto estable. Los grupos de sustituyentes adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos polares (por ejemplo, -NH<sub>2</sub>, -OH, -SH, -NC, etc.), grupos electrofílicos (por ejemplo, C(O)OR, C(X)OH, etc.), grupos no polares (por ejemplo, arilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, etc.), grupos iónicos (por ejemplo, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), y halógenos (por ejemplo, -F, -Cl), y todas las combinaciones químicamente razonables de los mismos. De este modo, el término "grupo funcional" y el término "sustituyente" se utilizan indistintamente en el presente documento y se refieren a grupos nucleofílicos (por ejemplo, -NH<sub>2</sub>, -OH, -SH, -NC, -CN, etc.), grupos electrofílicos (por ejemplo, C(O)OR, C(X)OH, C(halógeno)OR, etc.), grupos polares (por ejemplo, -OH), grupos no polares (por ejemplo, arilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, etc.), grupos iónicos (por ejemplo, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), y halógenos.

**[0067]** Cabe señalar que las posiciones de los radicales en cualquier resto molecular utilizado en las definiciones pueden estar en cualquier lugar de tales restos, siempre que sea químicamente estable.

**[0068]** Los radicales utilizados en las definiciones de las variables incluyen todos los posibles isómeros de posición a menos que se indique lo contrario. Por ejemplo, piridilo incluye 2-piridilo, 3-piridilo y 4-piridilo; pentilo incluye 1-pentilo, 2-pentilo y 3-pentilo.

**[0069]** Cuando cualquier variable aparece más de una vez en cualquier constituyente, cada definición es independiente.

**[0070]** Siempre que se utilice en lo sucesivo, el término "compuestos de fórmula (I)", o "los presentes compuestos" o términos similares, se pretende incluir los compuestos de fórmula (I), todos y cualquiera de los subgrupos de los mismos, N-óxidos, sales de adición, aminas cuaternarias, complejos metálicos y formas estereoquímicamente isómeras.

**[0071]** Los compuestos de fórmula (I) pueden tener uno o más centros de quiralidad y pueden existir como formas estereoquímicamente isoméricas. El término "formas estereoquímicamente isoméricas" tal como se utiliza en el presente documento define todos los posibles compuestos constituidos por los mismos átomos unidos por la misma secuencia de enlaces pero que tienen diferentes estructuras tridimensionales que no son intercambiables, que los compuestos de fórmula (I) pueden poseer.

**[0072]** Con referencia a los casos en los que se utiliza (R) o (S) para designar la configuración absoluta de un átomo quiral dentro de un sustituyente, la designación se realiza teniendo en cuenta todo el compuesto y no el sustituyente aisladamente.

**[0073]** A menos que se mencione o indique otra cosa, la designación química de un compuesto abarca la mezcla de todas las posibles formas estereoquímicamente isoméricas que dicho compuesto puede poseer. Dicha mezcla puede

contener todos los diastereómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Todas las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de la presente invención tanto en forma pura o mezclados unos con otros pretenden estar abarcadas dentro del alcance de la presente invención.

**[0074]** Las formas estereoisómeras puras de los compuestos y productos intermedios tal como se mencionan en el presente documento se definen como isómeros sustancialmente libres de otras formas enantioméricas o diastereoméricas de la misma estructura molecular básica de dichos compuestos o intermedios. En particular, el término "estereoisómicamente puro" se refiere a compuestos o intermedios que tienen un exceso de estereoisómero de al menos el 80% (es decir, mínimo el 90% de un isómero y máximo el 10% de los otros isómeros posibles) hasta un exceso de estereoisómero de 100% (es decir, 100% de un isómero y nada del otro), más en particular, compuestos o intermedios que tienen un exceso de estereoisómero de 90% hasta 100%, incluso más en particular que tienen un exceso de estereoisómero de 94% hasta 100% y más en particular que tienen un exceso de estereoisómero de 97% hasta 100%. Los términos "enantioméricamente puro" y "diastereoméricamente puro" deben entenderse de manera similar, pero entonces teniendo en cuenta el exceso enantiomérico y el exceso diastereomérico, respectivamente, de la mezcla en cuestión.

**[0075]** Las formas estereoisoméricas puras de los compuestos y compuestos intermedios de esta invención se pueden obtener mediante la aplicación de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los enantiómeros pueden separarse unos de otros mediante cristalización selectiva de sus sales diastereoméricas con ácidos o bases ópticamente activos. Ejemplos de los mismos son ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido ditoluoltartárico y ácido canfosulfónico. Alternativamente, los enantiómeros pueden separarse mediante técnicas cromatográficas utilizando fases estacionarias quirales. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también se pueden derivar de las correspondientes formas estereoquímicamente isoméricas puras de los materiales de partida apropiados, siempre que la reacción se produzca de manera estereoespecífica. Preferiblemente, si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetizará mediante métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos utilizarán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

**[0076]** Los racematos diastereoméricos de los compuestos de fórmula (I) pueden obtenerse por separado mediante métodos convencionales. Los métodos de separación física apropiados que se pueden emplear ventajosamente son, por ejemplo, cristalización selectiva y cromatografía, cromatografía en columna.

**[0077]** Para algunos de los compuestos de fórmula (I), sus N-óxidos, sales, solvatos, aminas cuaternarias, o complejos metálicos, y los intermedios usados en la preparación de los mismos, la configuración estereoquímica absoluta no se determinó experimentalmente. Una persona experta en la materia es capaz de determinar la configuración absoluta de dichos compuestos utilizando métodos conocidos en la técnica tales como, por ejemplo, difracción de rayos X.

**[0078]** La presente invención también pretende incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio. Los isótopos de carbono incluyen C-13 y C-14.

**[0079]** Algunos de los compuestos de fórmula (I) pueden existir también en su forma tautómera. Tales formas, aunque no se indican explícitamente en la fórmula anterior, pretenden estar incluidas dentro del alcance de la presente invención.

**[0080]** El término "tautómero" o "forma tautomérica" se refieren al isómero estructural de diferentes energías que son interconvertibles a través de una barrera de baja energía. Por ejemplo, los tautómeros de protón (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen la interconversión a través de la migración de un protón, tales como isomerizaciones ceto-enol e imina-enamina. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones por reorganización de algunos de los electrones de enlace.

**[0081]** La presente descripción también incluye los profármacos de los compuestos de fórmula (I).

**[0082]** El término "profármaco" tal como se utiliza en todo este texto significa los derivados farmacológicamente aceptables, tales como ésteres, amidas y fosfatos, tales que el producto de biotransformación resultante *in vivo* del derivado es el fármaco activo tal como se define en el presente documento (cafeína). La referencia por Goodman y Gilman (The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8ª ed, McGraw-Hill, Int. Ed. 1992, "Biotransformation of Drugs", pág. 13-15) que describe profármacos en general se incorpora en la presente. Los profármacos tienen preferiblemente una solubilidad acuosa excelente, una mayor biodisponibilidad y se metabolizan fácilmente en los inhibidores activos *in vivo*. Los profármacos de cafeína se pueden preparar modificando grupos funcionales presentes en el compuesto de tal manera que las modificaciones se escinden, ya sea por manipulación rutinaria o *in vivo*, del compuesto parental.

**[0083]** Se prefieren profármacos de éster farmacéuticamente aceptables que son hidrolizables *in vivo* y se derivan de aquellos compuestos de fórmula (I) que tiene un grupo hidroxilo o carboxilo. Un éster hidrolizable *in vivo* es un éster, que se hidroliza en el cuerpo humano o animal para producir el ácido o alcohol parental. Los ésteres farmacéuticamente aceptables adecuados para carboxilo incluyen ésteres de C1-6alcoximetilo, por ejemplo, metoximetilo, ésteres de C1-6alcanoiloximetilo, por ejemplo pivaloiloximetilo, ésteres de ftalidilo, ésteres de C3-8cicloalcoxycarboniloxiC1-6alquilo, por ejemplo 1-ciclohexilcarboniloxietilo; ésteres de 1,3-dioxolen-2-onilmetilo, por ejemplo 5-metil-1,3-dioxolen-2-onilmetilo; y ésteres de C1-6alcoxycarboniloxietilo, por ejemplo 1-metoxycarbonil-oxietilo, que se pueden formar en cualquier grupo carboxilo en los compuestos de esta invención.

**[0084]** Un éster hidrolizable *in vivo* de un compuesto de la fórmula (I) que contiene un grupo hidroxilo incluye ésteres inorgánicos, tales como ésteres de fosfato y ésteres de  $\alpha$ -aciloxialquilo y compuestos relacionados que, como resultado de la hidrólisis *in vivo* del éster, se rompen para dar el grupo hidroxilo parental. Los ejemplos de ésteres de  $\alpha$ -aciloxialquilo incluyen acetoximetoxi y 2,2-dimetilpropioniloxi-metoxi. Una selección de ésteres hidrolizables *in vivo* que forman grupos para hidroxilo incluyen alcanoil, benzoilo, fenilacetilo y benzoilo y fenilacetilo sustituidos, alcocarbonilo (para dar ésteres de carbonato de alquilo), dialquilcarbamoilo y N-(dialquilaminoetil)-N-alquilcarbamoilo (para dar carbamatos),

dialquilaminoacetilo y carboxiacetilo. Los ejemplos de sustituyentes en el benzoilo incluyen morfolino y piperazino enlazados desde un átomo de nitrógeno anular a través de un grupo metileno a la posición 3 ó 4 del anillo de benzoilo.

**[0085]** Para uso terapéutico, las sales de los compuestos de fórmula (I) son aquellos en los que el contraíón es farmacéuticamente aceptable. "Farmacéuticamente aceptable" tal como se utiliza en el presente documento significa que el extracto, la fracción del mismo, o compuesto del mismo o composición es adecuada para la administración a un sujeto para lograr los tratamientos descritos en el presente documento, sin efectos secundarios indebidamente perjudiciales a la luz de la gravedad de la enfermedad y la necesidad del tratamiento. Sin embargo, las sales de ácidos y bases que no son farmacéuticamente aceptables también pueden utilizarse, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable. Todas las sales, ya sean farmacéuticamente aceptables o no, están incluidas dentro del ámbito de la presente invención.

**[0086]** El ácido farmacéuticamente aceptable y sales de adición de base tal como se han mencionado anteriormente pretenden comprender las formas de ácido no tóxico y de sal de adición de bases terapéuticamente activos que los compuestos de fórmula (I) son capaces de formar. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden obtener convenientemente tratando la forma de base con un ácido apropiado. Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como hidrácidos halogenados, por ejemplo, ácido clorhídrico o ácido bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico y ácidos similares; o ácidos orgánicos, tales como, por ejemplo, acético, propanoico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir etandioico), malónico, succínico (es decir, ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico (es decir, ácido hidroxibutanodioico), tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, benzenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, p-aminosalicílico, pamoico y ácidos similares.

**[0087]** A la inversa, dichas formas de sal pueden convertirse mediante tratamiento con una base apropiada en la forma de base libre.

**[0088]** Los compuestos de fórmula (I) que contienen un protón ácido también se pueden convertir en sus formas de metal no tóxico o sales de adición de amina mediante el tratamiento con bases orgánicas e inorgánicas apropiadas. Las formas de sal de base apropiadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, por ejemplo, las sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, sales con bases orgánicas, por ejemplo, las sales de benzatrina, N-metil-D-glucamina, hidrabamina, y sales con aminoácidos, tales como, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

**[0089]** El término sal de adición tal como se utiliza en el presente documento también comprende los solvatos que los compuestos de fórmula (I), así como las sales de los mismos, son capaces de formar. Dichos solvatos son, por ejemplo, hidratos, alcoholatos y similares.

**[0090]** El término "amina cuaternaria", tal como se utiliza en el presente documento, define las sales de amonio cuaternario que los compuestos de fórmula (I) son capaces de formar por reacción entre un nitrógeno básico de un compuesto de fórmula (I) y un agente de cuaternización apropiado, tal como, por ejemplo, un haluro de alquilo, haluro de arilo o haluro de arilalquilo opcionalmente sustituidos, por ejemplo, yoduro de metilo o yoduro de bencilo. También se pueden utilizar otros reactivos con buenos grupos salientes, tales como trifluorometanosulfonatos de alquilo, metanosulfonatos de alquilo, y p-toluenosulfonatos de alquilo. Una amina cuaternaria tiene un nitrógeno cargado positivamente. Los contraíones farmacéuticamente aceptables incluyen cloro-, bromo-, yodo-, trifluoroacetato y acetato. El contraíón de elección puede introducirse utilizando resinas de intercambio iónico.

**[0091]** Las formas de N-óxido de los presentes compuestos pretenden comprender los compuestos de fórmula (I) en los que uno o varios átomos de nitrógeno están oxidados al denominado N-óxido.

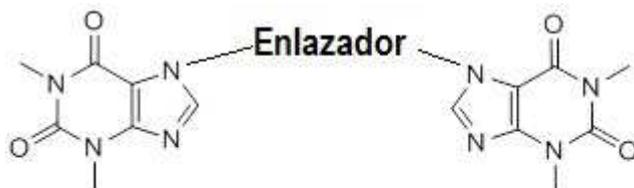
**[0092]** Se entenderá que los compuestos de fórmula (I) pueden tener propiedades de unión a metal, quelantes, de formación de complejos y por lo tanto pueden existir como complejos metálicos o quelatos metálicos. Dichos derivados metalados de los compuestos de fórmula (I) pretenden incluirse dentro del alcance de la presente invención.

**[0093]** La presente invención también se refiere al compuesto para su uso de acuerdo con el conjunto de reivindicaciones que se incluye en una composición.

**[0094]** En una realización particular de dicha composición, el compuesto de fórmula (I) comprendido en la composición está en forma de tautómero, solvato, hidrato, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o formando oligómeros tal como se define anteriormente.

**[0095]** En otra realización particular de dicha composición, en el compuesto de fórmula (I) comprendido en la composición  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  son cada uno independientemente entre sí H o Me, siempre que este compuesto no sea caféina ( $R^1 = R^2 = R^3 = CH_3$ ).

**[0096]** En otra realización particular de dicha composición, en el compuesto de fórmula (I) comprendido en la composición,  $R^3$  es un enlazador tal como se define anteriormente formando compuestos mostrados a continuación:



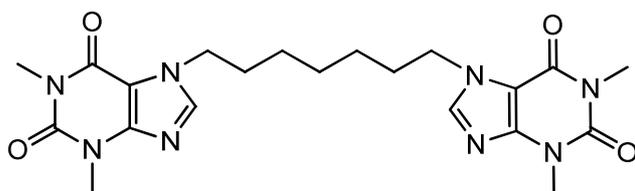
en el que el N al que está unido el enlazador se define como N-7.

[0097] En una realización preferida, dicha composición comprende cafeína.

5 [0098] La presente invención también se refiere a un método de tratamiento de la distrofia miotónica del tipo 1 en un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o un tautómero, solvato, hidrato, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o que forma oligómeros tal como se define anteriormente. Preferiblemente, el sujeto es un sujeto humano. Además, la presente invención también se refiere a un método de tratamiento de la distrofia miotónica del tipo 1 en un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) o un tautómero, solvato, hidrato, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o que forma oligómeros tal como se define anteriormente. La frase "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad de una sustancia tal que produce un cierto efecto local o sistémico deseado en una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento. La cantidad terapéuticamente eficaz de dicha sustancia variará dependiendo de la condición del sujeto y la enfermedad que se está tratando, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la condición de la enfermedad, la forma de administración y similares, que se pueden determinar fácilmente por un experto en la materia. Por ejemplo, ciertas composiciones de la presente descripción se pueden administrar en una cantidad suficiente para producir una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a dicho tratamiento.

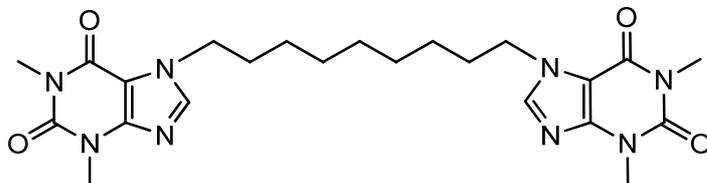
15 [0099] Tal como se utiliza en el presente documento, un paciente o sujeto que padecerá distrofia miotónica del tipo 1 ó 2 se define como una persona que porta cualquiera de las mutaciones genéticas indicadas en la sección de antecedentes, incluso cuando la enfermedad no se ha desarrollado.

20 [0100] En una realización preferida de dicha composición, el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en teofilina, teobromina, aminofilina, xantina, hipoxantina, 1,7-dimetilxantina, 3-isobutil-1-metilxantina, 3-metilxantina, 3-etil-1-propilxantina, 3-alil-1-etil-8-hidroxi-xantina, 3,8-dimetil-2-tioxantina, 1-etil-3-isobutilxantina,

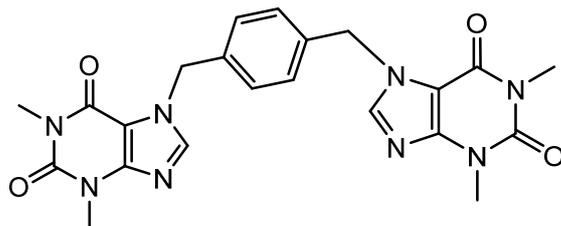


A

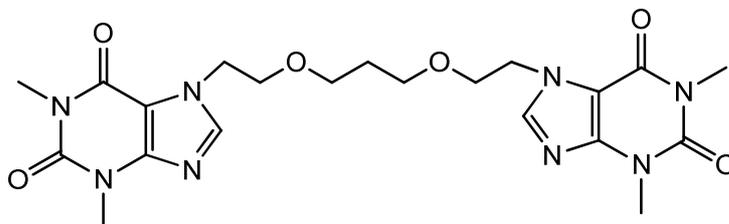
25



B



C



D

30



fórmula (I), incluso se puede utilizar como un aditivo para productos naturales para aumentar el efecto intrínseco de los compuestos de fórmula (I) ya encontrado en el producto natural.

**[0105]** En otra realización preferida, el compuesto o composición descritos en este documento se administran por vía oral, rectal, nasal, tópica, vaginal, parenteral, transdérmica, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal.

**[0106]** En otra realización preferida, el compuesto o composición según la invención se administra a un paciente que tiene una forma no congénita de DM.

**[0107]** Los intervalos de dosis de las composiciones farmacéuticas se pueden ajustar según sea necesario para el tratamiento de pacientes individuales y de acuerdo con la afección específica tratada. Se puede utilizar cualquiera de un conjunto de formulaciones farmacéuticas adecuadas como vehículo para la administración de las composiciones de la presente invención y quizás una variedad de vías de administración estén disponibles. El modo particular seleccionado dependerá, naturalmente, de la formulación particular seleccionada, de la gravedad de la enfermedad, trastorno o afección que se está tratando y de la dosificación requerida para la eficacia terapéutica. Los métodos de esta invención, en general, pueden practicarse utilizando cualquier modo de administración que sea médicamente aceptable, lo que significa cualquier modo que produzca niveles eficaces de los compuestos activos sin causar efectos adversos clínicamente inaceptables. Dichos modos de administración incluyen la vía oral, rectal, tópica, nasal, transdérmica o parenteral y similares. Por consiguiente, las formulaciones de la invención incluyen aquellas adecuadas para la administración oral, rectal, tópica, bucal, sublingual, parenteral (por ejemplo, subcutánea, intramuscular, intradérmica, por inhalación o intravenosa) y transdérmica, aunque la vía más adecuada en cualquier caso dado dependerá de la naturaleza y gravedad de la afección que se esté tratando y de la naturaleza del producto activo particular utilizado.

**[0108]** Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden presentarse en unidades discretas, tales como cápsulas, píldoras, pastillas para chupar, gotas, o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del compuesto activo; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión aceite-en-agua o agua-en-aceite. Dichas formulaciones se pueden preparar mediante cualquier método adecuado de farmacia que incluye la etapa asociar el compuesto activo y un portador adecuado (que puede contener uno o más ingredientes accesorios tal como se señaló anteriormente).

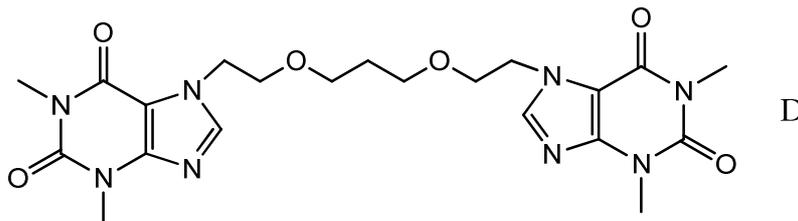
**[0109]** En general, las formulaciones de la invención se preparan mezclando uniforme e íntima del compuesto activo con un portador líquido o sólido finamente dividido, o ambos, y a continuación, si es necesario, conformando la mezcla resultante. Por ejemplo, un comprimido puede prepararse mediante compresión o moldeo de un polvo o gránulos que contienen el compuesto activo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos comprimidos se pueden preparar comprimiendo, en una máquina adecuada, el compuesto en una forma de fluido libre, tal como un polvo o gránulos opcionalmente mezclados con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, y/o agente(s) tensioactivo/dispersante. Los comprimidos moldeados pueden fabricarse moldeando, en una máquina adecuada, el compuesto en polvo humedecido con un aglutinante líquido inerte.

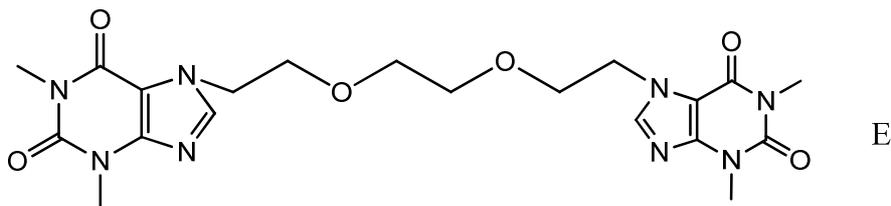
**[0110]** Las formulaciones de la presente invención adecuadas para administración parenteral comprenden convenientemente preparaciones acuosas estériles del compuesto activo, cuyas preparaciones son preferiblemente isotónicas con la sangre del receptor pretendido. Estas preparaciones pueden administrarse mediante inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, inhalación o inyección intradérmica. Dichas preparaciones pueden prepararse convenientemente mezclando el compuesto con agua o un tampón de glicina y haciendo que la solución resultante sea estéril e isotónica con la sangre.

**[0111]** Las formulaciones de las mezclas de la invención son particularmente adecuadas para la aplicación tópica para la piel y preferiblemente toman la forma de un ungüento, crema, loción, pasta, gel, pulverizador, aerosol, o aceite. Los portadores que pueden usarse incluyen vaselina, lanolina, polietilenglicoles, alcoholes, potenciadores transdérmicos, y combinaciones de dos o más de los mismos.

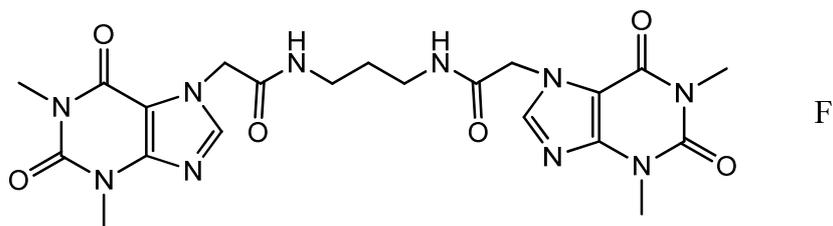
**[0112]** Las formulaciones adecuadas para administración transdérmica se pueden presentar también como vendajes medicados o parches discretos adaptados para permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un período prolongado de tiempo. Las formulaciones adecuadas para administración transdérmica pueden suministrarse también mediante iontoforesis (paso de una pequeña corriente eléctrica para "inyectar" iones eléctricamente cargados en la piel; también denominada administración electromotriz del fármaco (EMDA)) a través de la piel.

**[0113]** La presente invención también se refiere a nuevos compuestos que son dímeros de los compuestos de fórmula (I), opcionalmente en forma de tautómero, solvato, hidrato o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define anteriormente. Estos compuestos están representados por la siguiente fórmula:





y



5

[0114] El proceso para obtener estos compuestos se describe en la sección de ejemplos a continuación.

[0115] La presente invención se ilustrará adicionalmente a continuación mediante la referencia a los siguientes ejemplos.

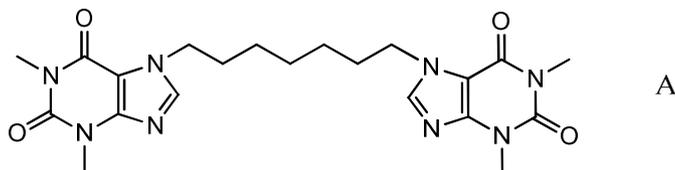
10

#### EJEMPLOS

**Ejemplo 1: Preparación del compuesto A (Teofilina-C7): 7,7'-(heptano-1,7-diil)bis(1,3-dimetil-1H-purina-2,6(3H,7H)-diona, CAS nr [156234-12-7])**

15

[0116]



20

[0117] Bajo atmósfera inerte, a una solución agitada de NaH (62 mg, 1,55 mmol) en 1 ml de DMF anhidro a 0°C, se añadió una solución de teofilina (140 mg, 0,775 mmol) en 3 ml de DMF anhidro. Después de 1 h a 0°C, se añadió 1,7-dibromoheptano (65 µl, 0,388 mmol) a la mezcla de reacción. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y una hora adicional a 65°C, y a continuación se extrajo completamente el disolvente. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre SiO<sub>2</sub> usando mezclas en gradiente de hexano/AcOEt y AcOEt/MeOH como eluyente, obteniéndose 0,070 g (40%) del producto deseado A.

25

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.06 (s, 2 H), 4.22 (t, J=7.0 Hz, 4 H), 3.42 (s, 6 H), 3.22 (s, 6 H), 1.75 (br. s., 4 H), 1.22 (br. s., 6 H) ppm.

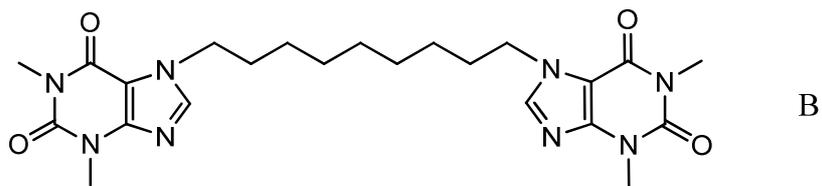
MS (ESI (+)): m/z = 479,2 [M+Na]<sup>+</sup>

MS (ESI (-)): m/z = 455,0 [M-H]<sup>-</sup>

30

**Ejemplo 2: Preparación del compuesto B (Teofilina-C9): 7,7'-(nonano-1,9-diil)bis(1,3-dimetil-1H-purina-2,6(3H,7H)-diona, CAS nr [156234-13-8])**

[0118]



5 [0119] Bajo atmósfera inerte, a una solución agitada de NaH (140 mg, 3,45 mmol) en 2 ml de DMF anhidro a 0°C, se añadió una solución de teofilina (378 mg, 2,098 mmol) en 10 ml de DMF anhidro. Después de 2 h a temperatura ambiente, se añadió lentamente 1,9-dibromopentano (142  $\mu$ l, 1,41 mmol) a la mezcla de reacción. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, y a continuación se extrajo completamente el disolvente. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre SiO<sub>2</sub> usando mezclas en gradiente de AcOEt/MeOH como eluyente, obteniéndose 0,108 g (32%) del producto deseado B.

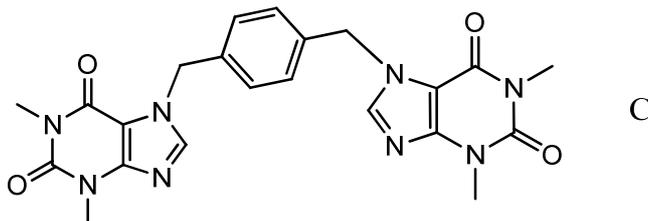
10 <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  8.07 (s, 2 H), 4.22 (t, J=7.0 Hz, 1 H), 3.42 (s, 6 H), 3.22 (s, 6 H), 1.69 - 1.83 (m, 4 H), 1.24 (br. s., 10 H) ppm.

MS (ESI (+)): m/z = 507,2 [M+Na]<sup>+</sup>

MS (ESI (-)): m/z = 483,0 [M-H]<sup>-</sup>

15 **Ejemplo 3: Preparación del compuesto C (Teofilina-Bz): 7,7'-(1,4-fenilenbis(metilen))bis(1,3-dimetil-1H-purina-2,6(3H,7H)-diona, CAS nr [865099-82-7])**

[0120]



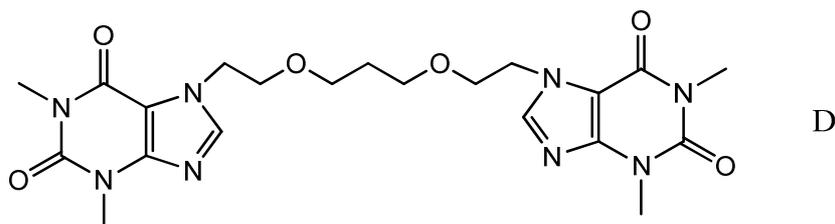
20 [0121] Bajo atmósfera inerte, a una solución agitada de NaH (152 mg, 3,788 mmol) en 2 ml de DMF anhidro a 0°C, se añadió una solución de teofilina (410 mg, 2,273 mmol) en 10 ml de DMF anhidro. Después de 2 h a temperatura ambiente, se añadió lentamente dibromuro de p-xilileno (200 mg, 0,758 mmol) a la mezcla de reacción. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, y a continuación se extrajo completamente el disolvente. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre SiO<sub>2</sub> usando mezclas en gradiente de AcOEt/MeOH como eluyente, obteniéndose el producto deseado C.

25 MS (ESI (+)): m/z = 485,2 [M+Na]<sup>+</sup>

**Ejemplo 4: Preparación del compuesto D (Teofilina-PG): 7,7'-((propano-1,3-diilbis(oxi))bis(etano-2,1-diil))bis(1,3-dimetil-1H-purina-2,6(3H,7H)-diona)**

30

[0122]



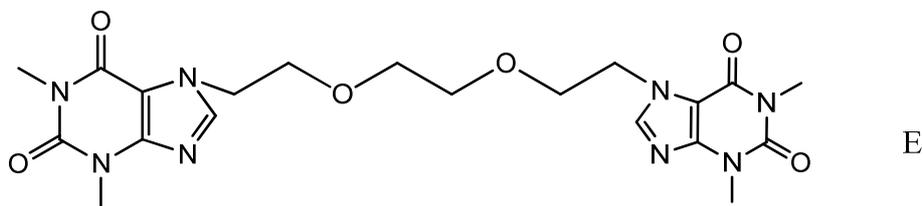
[0123] Etapa 1: A una solución agitada de 3,7-dioxa-1,9-nonanodiol (0,25 g, 1,523 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro a 0°C, se añadió 0,63 ml de Et<sub>3</sub>N anhidro (4,57 mmol, 3 eq). A esta solución, se añadió MsCl (3,65 mmol, 2,4 eq) y la mezcla se agitó durante al menos 2 h a 0°C. A continuación, el producto bruto se evaporó a sequedad, y se purificó cromatográficamente, obteniéndose 316 mg (65%) del intermedio deseado (propano-1,3-diilbis(oxi))bis(etano-2,1-diilo)dimetanosulfonato.

[0124] Etapa 2: Bajo atmósfera inerte, a una solución agitada de NaH (197 mg, 4,933 mmol) en DMF anhidro a 0°C, se añadió una solución de teofilina (533 mg, 2,96 mmol) en 20 ml de DMF anhidro. Después de 1 h a temperatura ambiente, se añadió (propano-1,3-diilbis(oxi))bis(etano-2,1-diilo)dimetanosulfonato de la etapa 1 (316 mg, 0,987 mmol) a la mezcla de reacción. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, y a continuación a 50°C durante al menos 24 h. La suspensión se filtró, y el sólido restante se lavó con NaOH 1 N y AcOEt. Después de filtrar, el sólido recuperado se identifica como el producto deseado D.

MS (ESI (+)): m/z = 511,1 [M+Na]<sup>+</sup>

**Ejemplo 5: Preparación del compuesto E (Teofilina-EG): 7,7'-((etano-1,2-diilbis(oxi))bis(etano-2,1-diil))bis(1,3-dimetil-1H-purina-2,6(3H,7H)-diona)**

[0125]

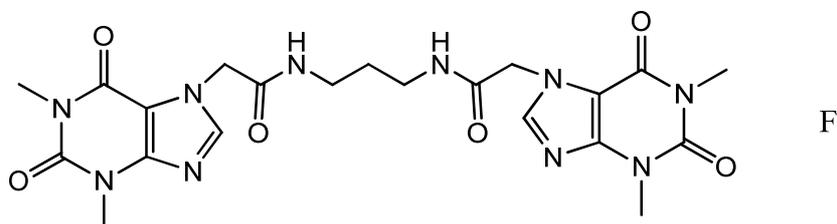


[0126] Bajo atmósfera inerte, a una solución agitada de NaH (267 mg, 6,682 mmol) en DMF anhidro a 0°C, se añadió una solución de teofilina (722 mg, 4,01 mmol) en 27 ml de DMF anhidro. Después de 1 h a temperatura ambiente, se añadió 1,2-bis(2-cloroetoxi)etano (250 mg, 1,336 mmol) a la mezcla de reacción. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, y a continuación a 50°C durante al menos 4 días. La suspensión se filtró, y el sólido restante se lavó con NaOH 1 N y AcOEt, obteniéndose 0,188 g (30%) del producto deseado E.

MS (ESI (+)): m/z = 497,0 [M+Na]<sup>+</sup>

**Ejemplo 6: Preparación del compuesto F (Teofilina-AM): N,N'-(propano-1,3-diil)bis(2-(1,3-dimetil-2,6-dioxo-2,3-dihidro-1H-purin-7(6H)-il)acetamida)**

[0127]



[0128] Etapa 1: Bajo atmósfera inerte, se añade 1,3-diaminopropano (0,25 g, 3,373 mmol) a una solución agitada de piridina (0,587 g, 7,42 mmol) en acetonitrilo anhidro (3 ml) a temperatura ambiente. A continuación, se añadió lentamente 0,60 ml de cloruro de cloroacetilo (0,838 mmol, 7,42 mmol) a 0°C. La mezcla se agitó durante al menos 2 h. A continuación, el producto en bruto se evaporó a sequedad y se extrajo con AcOEt, obteniéndose 440 mg (57%) del compuesto intermedio deseado N,N'-(propano-1,3-diil)bis(2-cloroacetamida).

[0129] Etapa 2: Bajo atmósfera inerte, a una solución agitada de NaH (248 mg, 6,20 mmol) en DMF anhidro a 0°C, se añadió una solución de teofilina (1,05 g, 5,813 mmol) en DMF anhidro. Después de 2 h a temperatura ambiente, se añadió N,N'-(propano-1,3-diil)bis(2-cloroacetamida) de la etapa 1 (440 mg, 1,938 mmol) a la mezcla de reacción. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, y a continuación a 50°C durante al menos 4 h. Después de

evaporación del disolvente, el sólido restante se lavó con NaOH 1 N y AcOEt, obteniéndose 542 mg (54%) del producto deseado F.

MS (ESI (+)): m/z = 537,1 [M+Na]<sup>+</sup>

5 **Tabla 1**

Compuesto ID	Nombre	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	X	Y	Z	CAS nr
1	Teofilina	Me	Me	H	O	O	H	[58-55-9]
2	Teobromina	H	Me	CH <sub>3</sub>	O	O	H	[83-67-0]
3	Aminofilina (= (Teofilina) <sub>2</sub> ·Etilendiamina)	Me	Me	H	O	O	H	[317-34-0]
4	Xantina	H	H	H	O	O	H	[69-89-6]
5	Hipoxantina							[68-94-0]
6	1,7-Dimetilxantina	Me	H	CH <sub>3</sub>	O	O	H	[611-59-6]
7	3-Isobutil-1-metilxantina	Me	<sup>i</sup> Bu	H	O	O	H	[28822-58-4]
8	3-Metilxantina	H	Me	H	O	O	H	[1076-22-8]
9	3-Etil-1-propilxantina	Pr	Et	H	O	O	H	[135462-23-6]
10	3-Alil-1-etil-8-hidroxixantina	Et	Allyl	H	O	O	OH	[194802-32-9]
11	3,8-Dimetil-2-tioxantina	H	Me	Me	O	S	Me	[91725-06-3]
12	1-Etil-3-isobutilxantina	Et	<sup>i</sup> Bu	H	O	O	H	[96654-24-9]

**Tabla 2**

Compuesto ID	Nombre	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	X	Y	Correspondencia al dímero
17	Teofilina-C7	Me	Me	H	O	O	A
18	Teofilina-C9	Me	Me	H	O	O	B
19	Teofilina-PG	Me	Me	H	O	O	D
20	Teofilina-EG	Me	Me	H	O	O	E
21	Teofilina-AM	Me	Me	H	O	O	F

10

### Las xantinas se unen a expansiones CUG

[0130] Esto se evaluó en experimentos de espectroscopía de polarización de fluorescencia. En estas pruebas, cuando la luz polarizada excita un fluoróforo conjugado a una molécula pequeña, se somete a la difusión de rotación más rápido que el tiempo requerido para la emisión de luz se produce, lo que resulta en una disposición al azar de la molécula en el tiempo de emisión de fluorescencia (despolarización). Sin embargo, la rotación de la molécula se vuelve más lento dependiendo de la viscosidad del medio o el volumen molecular, el aumento de la polarización de la luz emitida. Por lo tanto, mediante la medición de cambios en la polarización de un ARN con 23 repeticiones CUG conjugados con la carboxifluoresceína fluoróforo, FAM (CUG) 23, podemos considerar si una molécula candidato se une al ARN. En este ensayo se utilizó como control positivo, pentamidina (Warf et al. 2009), un compuesto que previamente había mostrado unirse a repeticiones CUG, y como control negativo un compuesto preevaluado para el cual se conocía su incapacidad para unirse a CUGs.

[0131] ARN CUG fluorescente (carboxifluoresceína marcado con (6-FAM)) se incubó con concentraciones crecientes de los compuestos ejemplo. Mientras que las moléculas de RNA 6-FAM-CUG no presentan fluorescencia en ningún eje particular de polarización, la unión a una molécula ralentiza el movimiento de rotación de la molécula y aumenta los valores de polarización. Mediante la unión al ARN CUG, los compuestos tienen la capacidad de modificar la toxicidad de repeticiones CUG por una serie de mecanismos que incluyen la alteración de la conformación de las estructuras secundarias que estos RNAs tienen en solución o inhibir competitivamente el secuestro de proteínas MBNL.

[0132] Para un compuesto dado, la polarización es sensible a la concentración.

[0133] Véase figura 1 y figura 2.

### Materiales y Métodos

#### Ensayos de polarización de fluorescencia

35

[0134] Se incubó ARN CUG marcado con carboxifluoresceína (6-FAM-CUG 23) a 6 nM con los compuestos a diferentes concentraciones en tampón de unión (50 mM Tris-HCl pH 7,0, NaCl 250 mM, 50 μM ZnCl<sub>2</sub>, 10% de glicerol, DTT 1 mM) en hielo durante 20 min en la oscuridad. La polarización se midió en un lector de Multilabel enVision® utilizando como FP480 filtro de excitación y como FP535 filtro de emisión.

40

### Las xantinas no son tóxicas para las células

[0135] Para evaluar la toxicidad de compuestos en cultivo celulares, se añadieron diferentes concentraciones de compuestos (de 0,1 a 100 microM) a los medios estándar en fibroblastos DM1 y se estudió la supervivencia utilizando el protocolo de ensayo acuoso no radiactivo de proliferación celular CellTiter 96; ensayo colorimétrico que determina células viables.

[0136] Dado que el porcentaje de supervivencia fue siempre superior al 50% en comparación con células no tratadas y por encima de 75% en comparación con células tratadas con DMSO, se continuaron usando todas las concentraciones en los siguientes ensayos de actividad, ya que su toxicidad era muy baja.

[0137] Véase figura 3.

## 10 Las xantinas reducen el número de foci ribonucleares por célula

[0138] Su reducción se suele utilizar típicamente como evidencia de la actividad deseada contra la distrofia miotónica en modelos de cultivo celular porque las proteínas MBNL son secuestradas en foci ribonucleares. Dado que las proteínas MBNL son limitantes en las distrofias miotónicas se espera que un incremento de MBNLs libre sea terapéutico.

### • Evidencias a partir de mioblastos humanos

[0139] Véase figura 4.

## 20 Materiales y Métodos

### *Condiciones de cultivo celular*

[0140] El modelo celular de la enfermedad (proporcionado por el laboratorio de D. Furling, Institute of Myologie, París) consistió en fibroblastos de piel inmortalizados (hTERT) normales y con DM1 (1300 repeticiones CTG) que expresan MyoD condicional. Las células de fibroblastos se cultivaron en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) con 4,5 g/l de glucosa, 1% de penicilina y estreptomina (P/S) y suero bovino fetal al 10% (FBS) (Sigma). Los fibroblastos se transdiferenciaron en mioblastos mediante la inducción de la expresión de MyoD. Las células se sembraron en medio de diferenciación muscular (MDM) preparado con DMEM, 4,5 g/l de glucosa con 1% de P/S, 2% de suero de caballo, 1% de apo-transferrina (10 mg/ml), 0,1% de insulina (10 mg/ml) y 0,02% de doxiciclina (10 mg/ml) durante 48 h. Para el análisis de compuestos, los fibroblastos se dividieron en partes alícuotas en placas de 24 pocillos con  $3,5 \times 10^4$  células por pocillo y se diferenciaron como antes. Los compuestos se añadieron a una concentración final de 37,5  $\mu$ M, 75  $\mu$ M y 125  $\mu$ M en medio MDM y las células se incubaron durante 48 h.

### 35 *Detección de foci*

[0141] Hibridación *in situ* con ARN de repetición CUG. Las células se fijaron en paraformaldehído al 4% (PFA) durante 10 min a temperatura ambiente, seguido de varios lavados en PBS 1x. Las células fijadas se incubaron en tampón de pre-hibridación (SSC 2x, 30% de formamida desionizada) durante 10 min a temperatura ambiente, se hibridaron con una sonda marcada con Cy3-(CAG)<sub>7</sub>-Cy3 diluida 1:100 en tampón de hibridación (formamida al 40%, 2x SSC, BSA al 0,2%, sulfato de dextrano al 10%, 2 mM de complejo de vanadilo, 10% de tRNA (10 mg/ml), esperma de arenque al 10%) durante 2 horas a 37°C, se lavaron dos veces en tampón de prehibridación durante 15 min a 45°C, se lavaron en PBS 1x durante 15 min a temperatura ambiente y se montaron en Vectashield (Vector) con DAPI 2  $\mu$ g/ml. Las imágenes fueron tomadas usando un microscopio de fluorescencia Leica DM2500 y los foci se contaron manualmente a partir de al menos 50 células por compuesto.

### Las xantinas aumentan la proteína Muscblind

#### • Cuantificación de la expresión Mbl o localización

[0142] Se sembraron fibroblastos inmortalizadas de DM1 transdiferenciadas en una placa de 94 pocillos (8000 células / por pocillo) en medio estándar. Para lograr la diferenciación de los fibroblastos a mioblastos, se indujo la expresión de MyoD cambiando el medio estándar a medio de diferenciación con doxiciclina y sin suero. 24h después de la inducción, los compuestos se añadieron las células a diferentes concentraciones, manteniendo siempre la concentración del disolvente (DMSO) al 1% en el medio. Cada concentración del compuesto se probó en tres pocillos diferentes. 24 horas después de la adición de los compuestos, las células se fijaron con paraformaldehído al 4% en PBS y la detección de Mbl se realizó usando anticuerpo monoclonal anti-MBNL1 con contraincubación con Hoechst para detectar los núcleos. El lector de placas confocal Incell 200 se usó para la detección y cuantificación de los parámetros seleccionados y los datos se analizaron mediante el software Graphpad para comparación estadística de los resultados.

[0143] Véase la figura 6 y la figura 7

#### Cuantificación de foci

[0144] Se sembraron fibroblastos de DM1 en una placa de 94 pocillos (8000 células / por pocillo) en medio estándar un día antes de la adición de los compuestos a los medios. Los compuestos se añadieron a las células a diferentes

concentraciones, manteniendo siempre la concentración del disolvente (DMSO) al 1% en el medio. Cada concentración del compuesto se probó en tres pocillos diferentes. 24 horas después de la adición de los compuestos, las células se fijaron con paraformaldehído al 4% en PBS y FISH para detectar ARN CUG se realizó utilizando una sonda (CAG) 23 marcada con Cy3. Las células se contratiñeron con Hoechst para detectar los núcleos. El lector de placas confocal Incell 200 se usó para la detección y cuantificación de los parámetros seleccionados y los datos se analizaron mediante el software Graphpad para comparación estadística de los resultados.

[0145] Véase figura 5.

[0146] Tomados en su conjunto, estos experimentos muestran que las xantinas tienen la capacidad de reducir el número de foci ribonucleares por célula. Tal interferencia en la formación, la estabilidad o el turnover de foci probablemente deriva de su afinidad por las repeticiones CUG del ARN. Debido a que los foci son una señal típica de toxicidad de ARN, su reducción es compatible con el uso terapéutico de xantinas en la distrofia miotónica. Más aún, las xantinas aumentan MBNL1 en comparación con la pentamidina como control positivo. Debido a que existe una amplia evidencia de que la actividad de MBNL1 está limitada en enfermedades DM1 y DM2 debido a secuestro por expansiones de repetición CUG y CCUG, aquellas estrategias destinadas a aumentar la cantidad de MBNL1 libre son terapéuticas en modelos de experimentación celulares y animales. Por lo tanto, las xantinas se proponen para ser utilizadas en el tratamiento de DM1 y DM2 en pacientes.

### Las composiciones que comprenden al menos una xantina o derivado de las mismas aumentan MBNL1 en mioblastos humanos de DM1

[0147] Para investigar si las composiciones que comprenden al menos una xantina tenían un efecto en los niveles de expresión de MBNL1 en células humanas, se inmunodetectó MBNL1 en mioblastos normales y en mioblastos control de DM1, y en mioblastos de DM1 cultivados en un rango de combinaciones que comprenden al menos un compuesto de fórmula (I) (véase la Tabla 3). La expresión de MBNL1 aumenta en el citoplasma y en el núcleo de la célula en comparación con los mioblastos de DM1 expuestos solamente a DMSO (utilizado como disolvente y control negativo).

Tabla 3

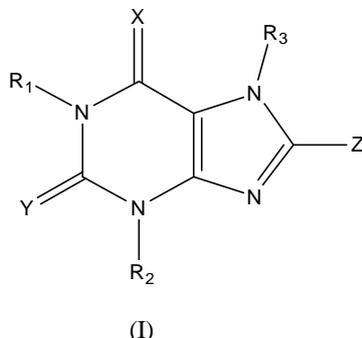
Muestra	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Proporción relativa
1	Teofilina	Teobromina	-	2:1
2	Teofilina	Teobromina	-	1:1
3	Teofilina	Teobromina	-	1:2
4	Teofilina	Aminofilina	-	2:1
5	Teofilina	Aminofilina	-	1:1
6	Teofilina	Aminofilina	-	1:2
7	Teobromina	Aminofilina	-	2:1
8	Teobromina	Aminofilina	-	1:1
9	Teobromina	Aminofilina	-	1:2
10	Teobromina	Teofilina	Aminofilina	1:1:1
11	Teobromina	Teofilina	Aminofilina	2:1:2
12	Teobromina	Teofilina	Aminofilina	1:1:2
13	Teofilina	Teobromina	1,7-Dimetilxantina	1:1:1
14	Teofilina	Teobromina	1,7-Dimetilxantina	2:1:2
15	Teofilina	Teobromina	1,7-Dimetilxantina	1:1:2
16	Teobromina	Teofilina	3-Isobutil-1-metilxantina	1:1:1
18	Teobromina	Teofilina	3-Isobutil-1-metilxantina	2:1:2
19	Teobromina	Teofilina	3-Isobutil-1-metilxantina	1:1:2
20	Teofilina	Teobromina	3-Metilxantina	1:1:1
21	Teofilina	Teobromina	3-Metilxantina	2:1:2
22	Teofilina	Teobromina	3-Metilxantina	1:1:2
23	Teobromina	Teofilina	3-Etil-1-propilxantina	1:1:1
24	Teobromina	Teofilina	3-Etil-1-propilxantina	2:1:2
25	Teobromina	Teofilina	3-Etil-1-propilxantina	1:1:2
26	Teobromina	1,7-Dimetilxantina	3-Isobutil-1-metilxantina	1:1:1
27	Teobromina	1,7-Dimetilxantina	3-Isobutil-1-metilxantina	2:1:2
28	Teobromina	1,7-Dimetilxantina	3-Isobutil-1-	1:1:2

ES 2 712 082 T3

			metilxantina	
28	Teobromina	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Metilxantina	1:1:1
30	Teobromina	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Metilxantina	2:1:2
31	Teobromina	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Metilxantina	1:1:2
32	Teobromina	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Etil-1-propilxantina	1:1:1
33	Teobromina	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Etil-1-propilxantina	2:1:2
34	Teobromina	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Etil-1-propilxantina	1:1:2
35	Teofilina	Cafeína	-	2:1
36	Teofilina	Cafeína	-	1:1
37	Teofilina	Cafeína	-	1:2
38	Teobromina	Cafeína	-	2:1
39	Teobromina	Cafeína	-	1:1
40	Teobromina	Cafeína	-	1:2
41	Aminofilina	Cafeína	-	2:1
42	Aminofilina	Cafeína	-	1:1
43	Aminofilina	Cafeína	-	1:2
44	Teofilina	Cafeína	Teobromina	1:1:1
45	Teofilina	Cafeína	Teobromina	2:1:2
46	Teofilina	Cafeína	Teobromina	1:1:2
47	1,7-Dimetilxantina	Cafeína	-	2:1
48	1,7-Dimetilxantina	Cafeína	-	1:1
49	1,7-Dimetilxantina	Cafeína	-	1:2
50	3-Isobutil-1-metilxantina	Cafeína	-	2:1
51	3-Isobutil-1-metilxantina	Cafeína	-	1:1
52	3-Isobutil-1-metilxantina	Cafeína	-	1:2
53	3-Metilxantina	Cafeína	-	2:1
54	3-Metilxantina	Cafeína	-	1:1
55	3-Metilxantina	Cafeína	-	1:2
56	3-Etil-1-propilxantina	Cafeína	-	2:1
57	3-Etil-1-propilxantina	Cafeína	-	1:1
58	3-Etil-1-propilxantina	Cafeína	-	1:2
59	1,7-Dimetilxantina	3-Isobutil-1-metilxantina	Cafeína	1:1:1
60	1,7-Dimetilxantina	3-Isobutil-1-metilxantina	Cafeína	2:1:2
61	1,7-Dimetilxantina	3-Isobutil-1-metilxantina	Cafeína	1:1:2
62	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Metilxantina	Cafeína	1:1:1
63	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Metilxantina	Cafeína	2:1:2
64	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Metilxantina	Cafeína	1:1:2
65	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Etil-1-propilxantina	Cafeína	1:1:1
66	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Etil-1-propilxantina	Cafeína	2:1:2
67	3-Isobutil-1-metilxantina	3-Etil-1-propilxantina	Cafeína	1:1:2

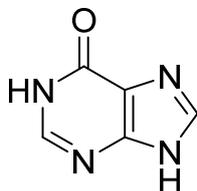
## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



en el que:

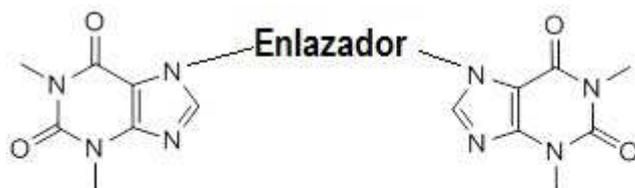
- 20
- 25
- 30
- R<sup>1</sup> es hidrógeno o una cadena alquilo opcionalmente sustituida;
  - R<sup>2</sup> es hidrógeno; una cadena alquilo opcionalmente sustituida; o un alquenoilo opcionalmente sustituido;
  - R<sup>3</sup> es hidrógeno; una cadena alquilo opcionalmente sustituida; o un enlazador unido a otro compuesto de fórmula (I) a través de N-7, donde N-7 es el átomo de N unido a R<sup>3</sup> en la estructura de fórmula (I), en el que el enlazador se selecciona entre un alquilo opcionalmente sustituido, un arilo opcionalmente sustituido, o un alquilarilalquilo opcionalmente sustituido;
  - X es O;
  - Y es O;
  - Z es hidrógeno; una cadena alquilo opcionalmente sustituida; o OH;
  - o un derivado de dicho compuesto de fórmula (I) representado por la fórmula:



35

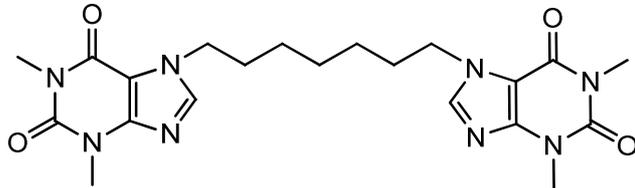
siempre que este compuesto de fórmula (I) no sea cafeína,  
para utilizar en la reducción de la severidad de los síntomas de la distrofia miotónica tipo 1 o tipo 2 en un sujeto que sufre de la distrofia miotónica tipo 1 o tipo 2 mediante el aumento de la cantidad de proteína libre MBNL, dichos síntomas que incluyen las que afectan al corazón, sistema nervioso central, musculatura lisa, sistema hormonal, sistema inmunológico, la visión, el sistema reproductivo y la piel.

- 40
- 45
- 50
- 55
2. Compuesto para utilizar, según la reivindicación 1, que está en forma de tautómero, solvato, hidrato, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o formando oligómeros.
  3. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> son cada uno independientemente entre sí, H o Me, siempre que este compuesto no sea cafeína.
  4. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R<sup>3</sup> es un enlazador tal como se define según la reivindicación 1 o 2, para formar compuestos con la siguiente estructura:

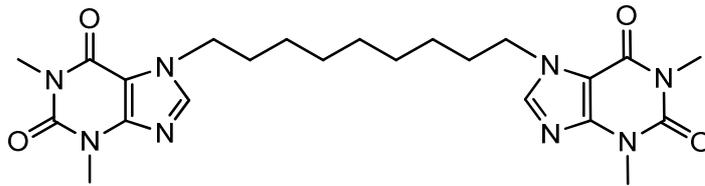


en el que el N al que está unido el enlazador se define como N-7.

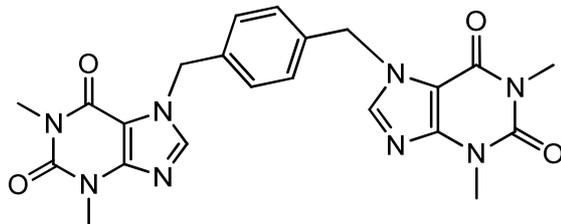
5. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, seleccionado del grupo que consiste en teofilina, teobromina, aminofilina, xantina, hipoxantina, 1,7-dimetilxantina, 3-isobutil-1-metilxantina, 3-metilxantina, 3-etil-1-propilxantina, 3-*alil*-1-etil-8-hidroxixantina, 3,8-dimetil-2-tioxantina, 1-etil-3-isobutilxantina,



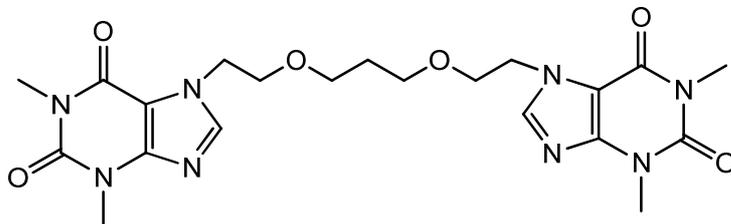
A



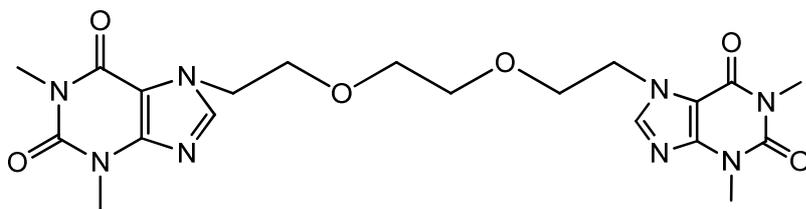
B



C

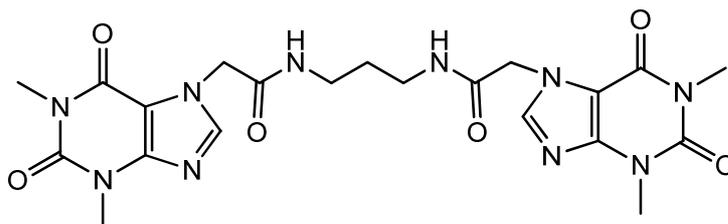


D



E

y



F

6. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que está presente en una composición.

7. Compuesto para utilizar, según la reivindicación 6, en el que dicho compuesto está presente en una composición que además comprende cafeína.

8. Compuesto para utilizar, según la reivindicación 6 o la reivindicación 7, donde dicho compuesto está presente en una composición que se formula como una composición farmacéutica, alimento, ingrediente alimenticio o suplemento alimenticio, composición nutracéutica, aditivo para un producto natural o está presente en el extracto de un producto natural.

5

9. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, donde dicho compuesto está presente en una composición en forma de sólido o líquido.

10

10. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, donde dicho compuesto está presente en una composición que está presente en un producto lácteo, una bebida, un producto de chocolate o cereales.

11. Compuesto para utilizar según la reivindicación 8, donde dicho compuesto está presente en una composición en un suplemento alimenticio o composición nutracéutica.

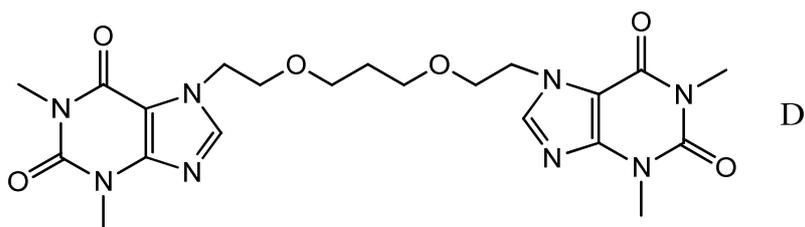
15

12. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que se administra por vía oral, rectal, nasal, tópica, vaginal, parenteral, transdérmica, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal.

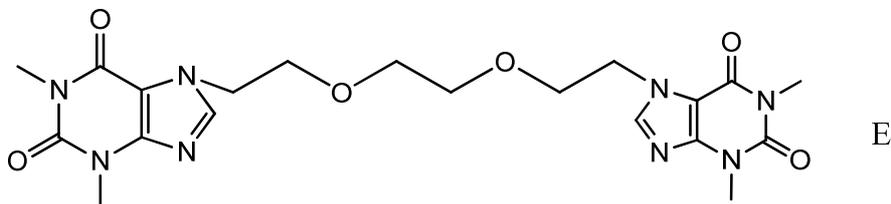
13. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde dicho compuesto o dicho compuesto presente en una composición, se administra a un individuo que padece la forma no congénita de DM.

20

14. Compuesto de fórmula:

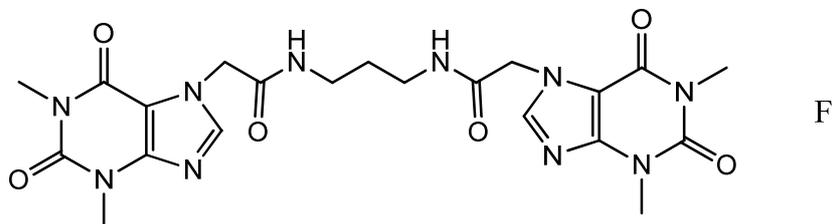


25



30

o



35

15. Compuesto según la reivindicación 14, en el que el compuesto está en forma de tautómero, solvato, hidrato, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Figura 1

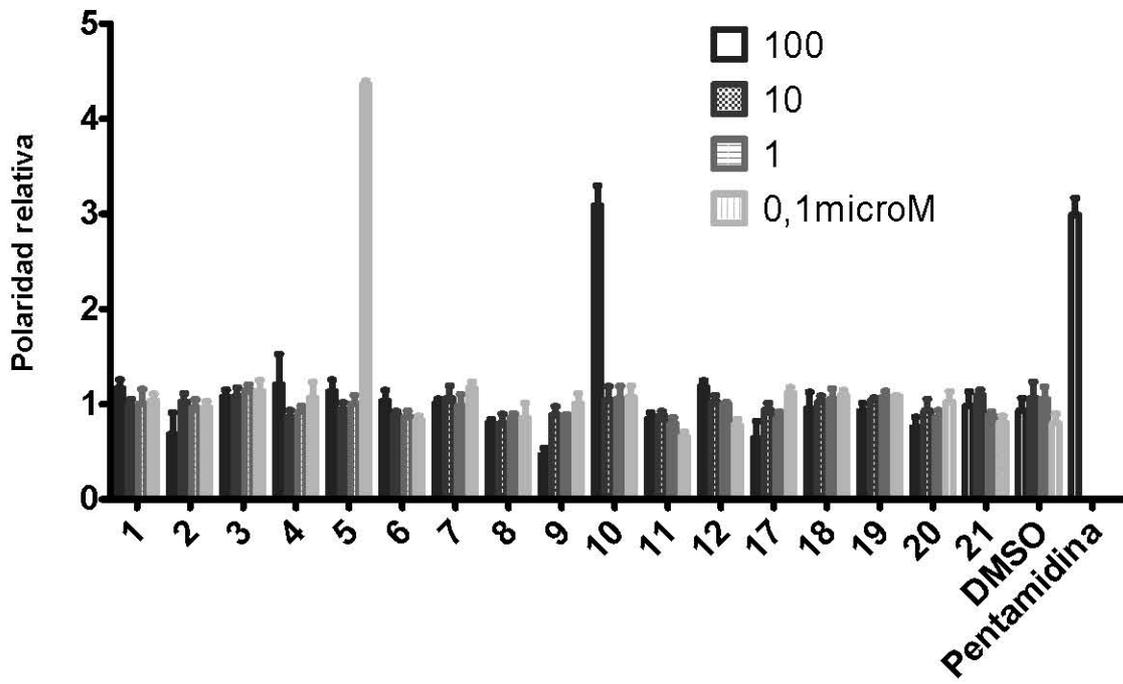


Figura 2

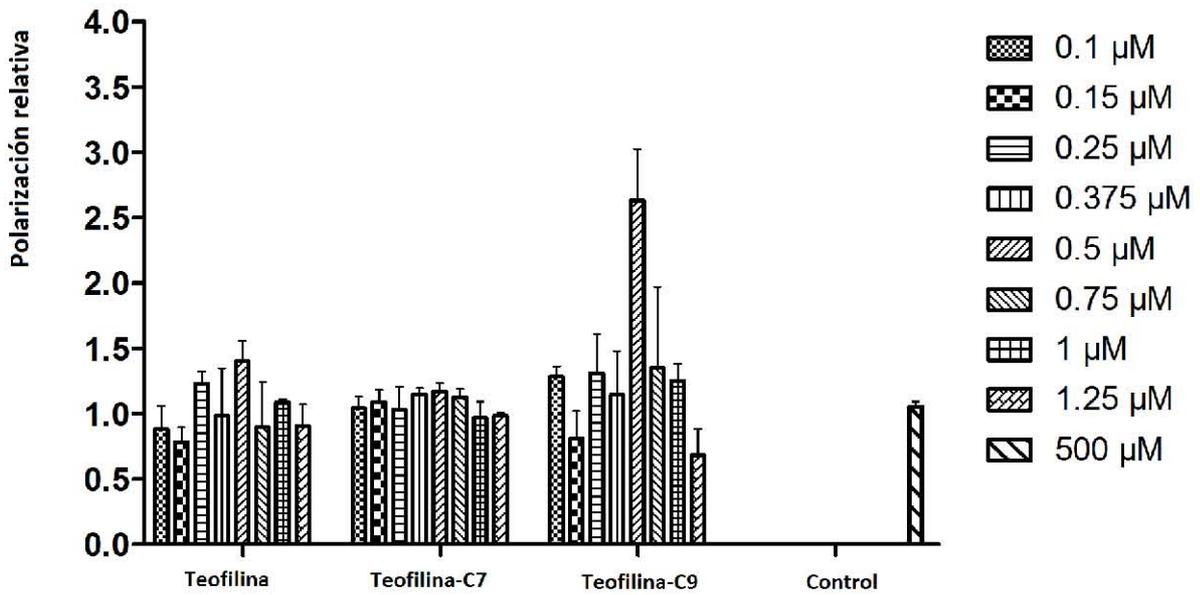


Figura 3

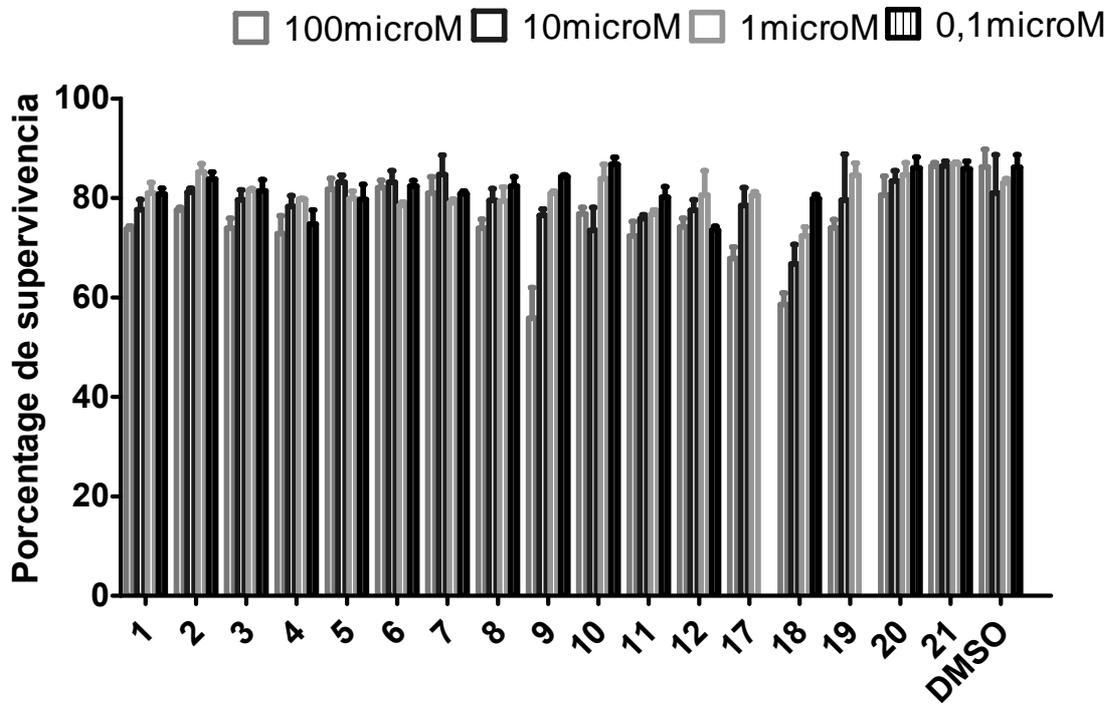


Figura 4

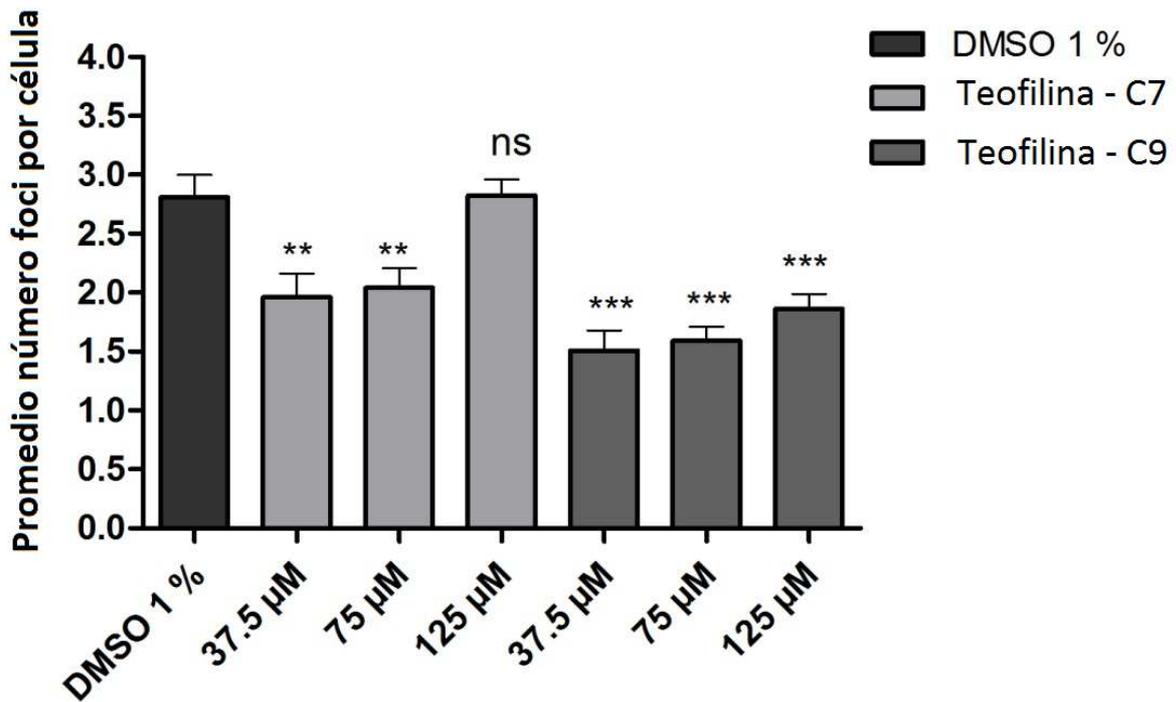


Figura 5

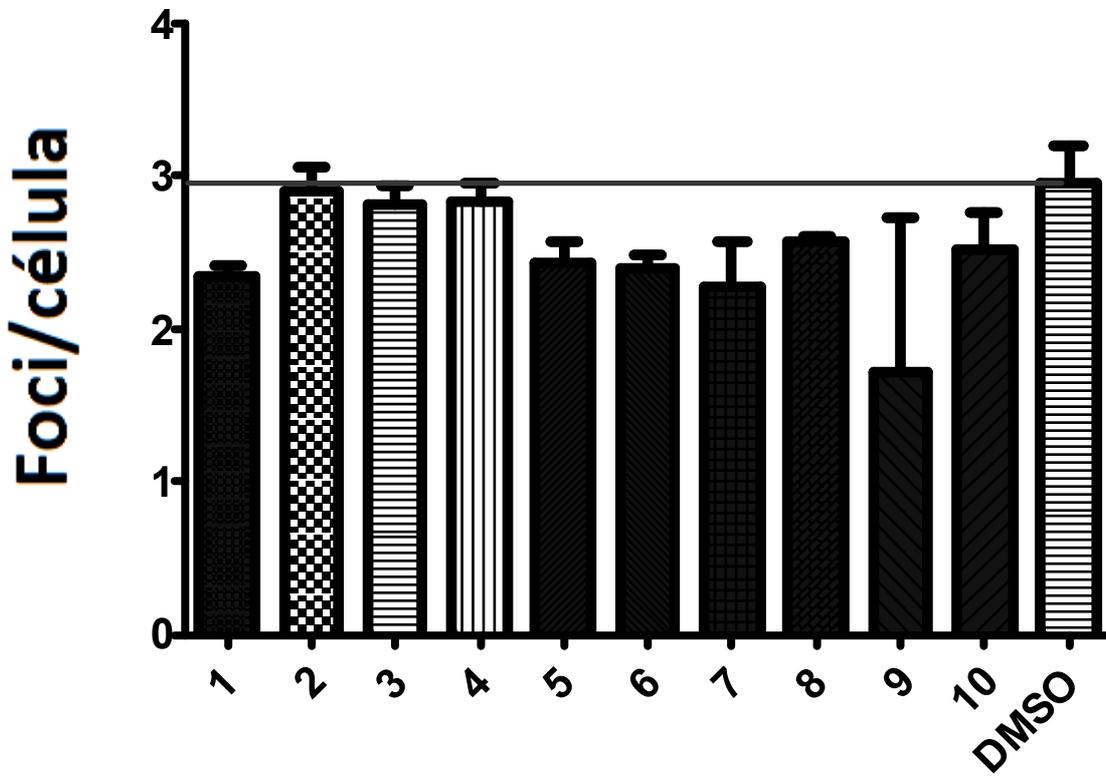


Figura 6

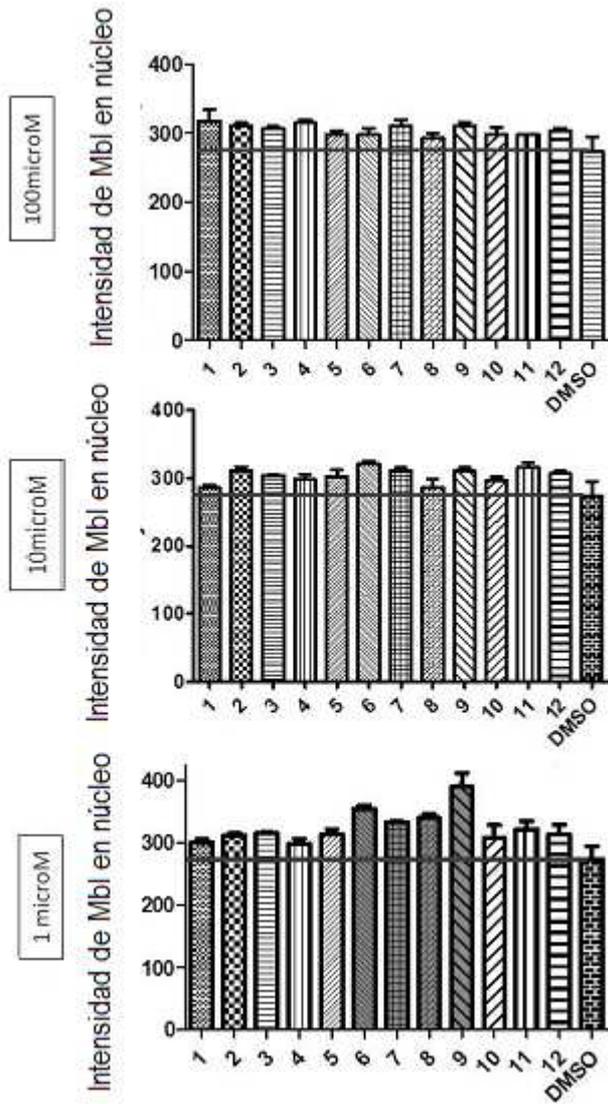


Figura 7

