

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 751 623**

(51) Int. Cl.:

**C07D 403/12** (2006.01)  
**C07D 401/14** (2006.01)  
**C07D 401/02** (2006.01)  
**A61K 31/506** (2006.01)  
**A61P 25/00** (2006.01)  
**A61P 3/00** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61P 9/00** (2006.01)  
**A61P 31/12** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.10.2015 PCT/EP2015/073141**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **14.04.2016 WO16055517**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2015 E 15775223 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 3204380**

(54) Título: **Nuevos compuestos de aminopiridina útiles como inhibidores de la prenilación de proteínas**

(30) Prioridad:

**08.10.2014 EP 14306578**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**01.04.2020**

(73) Titular/es:

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE (33.3%)**  
**101, rue de Tolbiac**  
**75013 Paris, FR;**  
**ASSOCIATION FRANCAISE CONTRE LES MYOPATHIES (33.3%) y**  
**UNIVERSITE D'EVRY VAL D'ESSONNE (33.3%)**

(72) Inventor/es:

**PESCHANSKI, MARC;**  
**BLONDEL, SOPHIE y**  
**NISSAN, XAVIER**

(74) Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 751 623 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

Nuevos compuestos de aminopiridina útiles como inhibidores de la prenilación de proteínas

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al campo de la prevención o el tratamiento de enfermedades o trastornos que implican una desregulación de la prenilación de proteínas, que incluye la prevención o el tratamiento de la progeria.

Antecedentes de la invención

10 La prenilación consiste en la adición de un grupo isoprenoide a un residuo de cisteína situado cerca del extremo carboxilo de una proteína. Esta modificación postraduccional enzimática es importante para la maduración y el procesamiento de proteínas. Ambos procesos son necesarios para mediar en las asociaciones proteína-proteína y membrana-proteína, además de regular la localización y la función de las proteínas. El fenotipo grave de animales deficientes en enzimas implicadas tanto en la prenilación como en la maduración destaca la significación de estos procesos. Por otra parte, se ha encontrado que las alteraciones en los genes que codifican proteínas o enzimas isopreniladas que están implicadas en los procesos tanto de prenilación como de maduración son la base de varias enfermedades humanas, tales como cáncer, trastornos neurodegenerativos, retinitis pigmentosa y síndromes de 15 envejecimiento prematuro. Estudios recientes sobre el procesamiento de la isoprenilación y la posprenilación en condiciones patológicas han desvelado aspectos sorprendentes de estas modificaciones y sus papeles en diferentes rutas celulares. La identificación de estas enzimas como dianas terapéuticas ha conducido a los investigadores a validar sus efectos *in vitro* e *in vivo* como agentes antitumorales o contra el envejecimiento.

20 El síndrome progérico de Hutchinson-Gilford (HGPS) es una enfermedad de envejecimiento prematuro segmentaria ultrarrara que da como resultado una muerte temprana por ataque cardíaco o apoplejía. No existe un tratamiento aprobado, pero empezando en 2007, varios exámenes clínicos de una sola rama recientes han administrado inhibidores de la farnesilación de proteínas destinados a reducir la toxicidad de la proteína productora de la enfermedad, progerina. Ningún estudio ha valorado si los tratamientos influyen en la supervivencia de los pacientes.

25 La identificación de los mecanismos moleculares que conducen al envejecimiento prematuro en niños afectados por el síndrome progérico de Hutchinson Gilford (HGPS) (OMIM #176670) ha permitido a los profesionales clínicos probar fármacos reutilizados elegidos. Sin embargo, hasta ahora, la falta de modelos celulares *in vitro* apropiados ha impedido ensayos más amplios de entidades químicas usando un cribado de alto rendimiento (HTS).

30 El HGPS es una enfermedad genética extremadamente rara (Merideth y cols., 2008, *N Engl J Med*, Vol. 358: 592-604) debida a una sustitución de una sola base en el exón 11 del gen de LMNA (De Sandre-Giovannoli y cols., 2003, *Science*, Vol. 300: 2055; Eriksson y cols., 2003, *Nature*, Vol. 423: 293-298) (c.1824C>T, Secuencia de Referencia del NCBI: NM\_170707.3). Esto conduce a la activación de un sitio donante de empalme crítico que provoca la eliminación de 50 aminoácidos en la prelamina A y la producción de una forma tóxica de la proteína de prelamina A denominada progerina (Navarro y cols., 2004, *Hum Mol Genet*, Vol. 13: 2493-2503).

40 Debido a que la secuencia eliminada se requiere para su maduración postraduccional, esta proteína mutante se acumula en la membrana nuclear, y este es el principal mecanismo que conduce al envejecimiento segmentario prematuro y acelerado en los pacientes. Aunque la desorganización de la conformación nuclear se observa fácilmente en células con HGPS, está asociado a un grupo de disfunciones celulares bien caracterizadas, incluyendo la senescencia prematura así como defectos en la reparación de ADN, la proliferación y la diferenciación celulares.

45 Desde el descubrimiento de los mecanismos moleculares que conducen a HGPS, se han reutilizado tres fármacos diferentes por su capacidad para elegir como diana el proceso de prenilación, a saber el inhibidor de HMG-CoA reductasa (HMGCR) pravastatina asociado con el aminobisfosfonato zoledronato, y el inhibidor de farnesil transferasa (FTI) lonafarnib (Varela y cols., 2008, *Nat Med*, Vol. 14: 767-772; Yang y cols., 2005, *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol. 102: 10291-10296; Yang y cols., 2010, *Journal of lipid research*, Vol. 51: 400-405). A lo largo de los últimos 10 años, en efecto, varios estudios experimentales han demostrado la importancia de estos enfoques farmacológicos que muestran que la inhibición del proceso de prenilación de prelamina A se correlacionaba con una mejora de la conformación nuclear y otros defectos celulares relacionados con HGPS. Conjuntamente, estos estudios han impulsado la elaboración de tres exámenes clínicos (Capell y cols., 2005, *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol. 102: 12879-12884; Capell y cols., 2008, *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol. 105: 15902-15907; Glynn y Glover, 2005, *Human Mol Genet*, Vol. 14: 2959-2969; Varela y cols., 2008, *Nat Med*, Vol. 14: 767-772; Young y cols., 2013, *Sci Transl Med* Vol. 5: 171ps173) que revelaban algunas mejoras parciales de los fenotipos clínicos de los pacientes, haciéndolos esenciales para descubrir nuevas moléculas potenciales (Gordon y cols., 2012, *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol. 109: 16666-16671).

Gracias a sus propiedades de pluripotencia y autorrenovación, las células madre embrionarias (ES) y las células madre pluripotentes (iPS) ofrecen un modo único para producir un recurso biológico ilimitado y homogéneo para probar compuestos químicos *in vitro*, en un entorno de HTS (Desbordes y Studer, 2013, Nat Protoc, Vol. 8: 111-130; Lee y cols., 2012, Nat Biotechnol, Vol. 30: 1244-1248). Desde 2011, varios grupos han demostrado la capacidad de 5 líneas celulares de iPS para recapitular algunos aspectos del HGPS después de la diferenciación en células del músculo liso vascular (VSMCs) y células madre mesenquimales (MSCs) (Liu y cols., 2011, Nature, Vol. 472: 221-225; Nissan y cols., 2012, Cell Rep, Vol. 2: 1-2; Zhang y cols., 2011, Cell Stem Cell, Vol. 8: 31-45). Más 10 recientemente, se ha mostrado que esas células se podrían usar para evaluar, *in vitro*, los efectos funcionales de los fármacos que se usan actualmente en pacientes con HGPS sobre defectos celulares y moleculares típicos, tales como la arquitectura de la conformación nuclear, la expresión de progerina y su diferenciación prematura a lo largo 15 del linaje osteoblástico (Blondel y cols., 2014, Stem cells Transl Med, Vol. 3: 510-519).

Gozalbes y cols. (« Supporting Information », Development and experimental validation of a docking strategy for the 15 generation of kinase-targeted libraries, 2008) describe compuestos, en particular compuestos de diaminopirimidina, que son inhibidores de cinasas.

El documento EP1 110 957 divulga compuestos de benzazol que son útiles como moduladores de la ruta de JNK (cinasa Jun), en particular como inhibidores de JNK2 y/o 3 y que son particularmente útiles en el tratamiento de 20 trastornos del sistema autoinmunitario y el neuronal.

El documento US2005/182067 describe compuestos útiles en el tratamiento de enfermedades, tales como enfermedades mediadas por receptores de vainilloides y otras patologías tales como dolor inflamatorio o neuropático y enfermedades que implican a la función de los nervios sensores. 25

Moorthy y cols. (« Farnesyl transferase inhibitors : a comprehensive review based on quantitative structural analysis », vol.20, n°38, 2013, 4888-4923).

Existe una necesidad en la especialidad de disponer de compuestos adicionales útiles en la prevención o en el tratamiento de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas.

### 30 Sumario de la invención

Se ha encontrado ahora que nuevos compuestos pertenecientes a una clase de compuestos de aminopiridina de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) como las definidas posteriormente en la presente son capaces de inhibir la prenilación de proteínas y más precisamente la farnesilación de proteínas, mientras que carecen de toxicidad.

35 Por lo tanto, la presente invención se refiere a compuestos de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) como las definidas posteriormente para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas.

40 Por otra parte, la presente invención se refiere a compuestos de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) como las definidas posteriormente para el uso como medicamentos.

La presente invención se refiere además a compuestos de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) como tales, como las definidas posteriormente.

45 La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden al menos uno de dichos nuevos compuestos y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

### Descripción de las figuras

#### Figura 1: Cribado de alto rendimiento de 21608 moléculas pequeñas sobre la maduración de prelamina A

50 Experimentos de respuesta a la dosis de los 5 moduladores de prelamina A identificados (Mono-AP1, Mono-AP2, Mono-AP3, Di-AP1 y Di-AP2). Cada gráfico representa la viabilidad celular (curva superior) y el porcentaje de núcleos positivos a prelamina A (curva inferior). Cada punto representa la media +/- SD del porcentaje de las 8 réplicas.

#### Figura 2: Evaluación farmacológica de los 5 moduladores de prelamina A sobre defectos por HGPS

(2A) Medida de anomalías de la conformación nuclear (inmunotinción de lamina A/C) en MSCs con HGPS 55 después de 48 horas de tratamientos con cada uno de los 5 moduladores de prelamina A (Mono-AP1, Mono-AP2, Mono-AP3, Di-AP1 y Di-AP2). Cada gráfico representa la media +/- SD de 8 experimentos independientes.

(2B) Medida de la diferenciación osteogénica (actividad de fosfatasa alcalina) en MSCs con HGPS después de 7 días de diferenciación en presencia de cada uno de los 5 moduladores de prelamina A (Mono-API, Mono-AP2, Mono-AP3, Di-AP1 y Di-AP2). Cada gráfico representa la media +/- SD de 8 experimentos independientes. Los datos se normalizan sobre el número de células.

5 (2C) Medida de la proliferación celular (inmunotinción de Ki-67) en MSCs con HGPS después de 48 horas de tratamientos con cada uno de los 5 moduladores de prelamina A (Mono-API, Mono-AP2, Mono-AP3, Di-AP1 y Di-AP2). Cada gráfico representa la media +/- SD de 8 experimentos independientes.

Figura 3: Relación Estructura-Actividad de Mono-APs

10 (A) Cuantificación automatizada de núcleos teñidos con prelamina A en MSCs con HGPS después de 48 horas de tratamiento con 47 compuestos que contienen un dominio de Mono-APs en 10  $\mu$ M. Los datos se comparan con FTI 1  $\mu$ M (en rojo). Cada valor representa la media +/- SD del porcentaje de 4 réplicas.

(B) Análisis de respuesta a la dosis de los 9 aciertos identificados como positivos (Mono-AP21, Mono-AP28, Mono-AP26, Mono-AP9, Mono-AP30, Mono-AP25, Mono-AP27, Mono-AP16, Mono-AP24) sobre el proceso de maduración de prelamina A en MSCs con HGPS. Cada punto representa la media +/- SD del porcentaje de 8 réplicas.

15 (C) Viabilidad celular de MSCs con HGPS después del tratamiento con los 9 aciertos identificados como positivos (Mono-AP21, Mono-AP28, Mono-AP26, Mono-AP9, Mono-AP30, Mono-AP25, Mono-AP27, Mono-AP16, Mono-AP24). Cada punto representa la media +/- SD del porcentaje de 8 réplicas.

Figura 4: Acoplamiento molecular de Mono-APs sobre HMG-CoA reductasa (HMGCR), farnesil pirofosfato sintasa (FPPS) y farnesil transferasa (FT)

20 (4A) Medida de la actividad de FT en presencia de Mono-AP1 25  $\mu$ M, Monop-AP2 50  $\mu$ M y Mono-AP3 50  $\mu$ M. Se usó tipifarnib 1  $\mu$ M (FTI) como control positivo. Los resultados se presentan en porcentaje del control. Cada punto representa la media +/- SD del porcentaje de 8 réplicas.

25 (4B) Medida de la actividad de FPPS en presencia de Mono-AP1 25  $\mu$ M, Monop-AP2 50  $\mu$ M y Mono-AP3 50  $\mu$ M. Se usó zoledronato 1  $\mu$ M como control positivo. Los resultados se presentan en porcentaje del control. Cada punto representa la media +/- SD del porcentaje de 8 réplicas.

(4C) Medida de la actividad de HMGCR en presencia de Mono-AP1 25  $\mu$ M, Monop-AP2 50  $\mu$ M y Mono-AP3 50  $\mu$ M. Se usó pravastatina 1  $\mu$ M como control positivo. Los resultados se presentan en porcentaje del control. Cada punto representa la media +/- SD del porcentaje de 8 réplicas

Figura 5: Efecto de los 5 compuestos validados sobre el proceso de maduración de prelamina A

30 (5A) Análisis de la expresión génica de la relación lamina A/C en MSC con HGPS después de 48 horas de tratamientos con cada uno de los 5 compuestos validados (Mono-API, Mono-AP2, Mono-AP3, Di-AP1 y Di-AP2). Los datos se normalizan sobre MSC con HGPS tratadas con DMSO al 0,1%. Cada gráfico representa la media +/- SD de tres experimentos independientes.

35 (5B) Análisis de la expresión génica de la expresión de progerina en MSC con HGPS después de 48 horas de tratamientos con cada uno de los 5 compuestos validados (Mono-API, Mono-AP2, Mono-AP3, Di-AP1 y Di-AP2). Los datos se normalizan sobre MSC con HGPS tratadas con DMSO al 0,1%. Cada gráfico representa la media +/- SD de tres experimentos independientes.

Figura 6: Análisis de los efectos de los aciertos sobre la farnesilación de HDJ2 y hRAS

40 Cuantificación del porcentaje de MSCs con HGPS que presenta una localización citoplásmica (desfarnesilada) de GFP después de 48 horas de tratamientos con cada uno de los 5 moduladores de prelamina A (Mono-API, Mono-AP2, Mono-AP3, Di-AP1 y Di-AP2). Cada gráfico representa la media +/- SD de 3 experimentos independientes.

Figura 7: Estudio de la Relación Estructura-Actividad de Mono-APs

(7A) Medida de la actividad de FT en presencia de Mono-AP1 25  $\mu$ M, Monop-AP21 25  $\mu$ M y Mono-AP28 25  $\mu$ M. Se usó tipifarnib 1  $\mu$ M (FTI) como control positivo. Los resultados se presentan en porcentaje del control. Cada punto representa la media +/- SD del porcentaje de 8 réplicas.

5 (7B) Medida de la actividad de FPPS en presencia de Mono-AP1 25  $\mu$ M, Monop-AP21 25  $\mu$ M y Mono-AP28 25  $\mu$ M. Se usó zoledronato 1  $\mu$ M como control positivo. Los resultados se presentan en porcentaje del control. Cada punto representa la media +/- SD del porcentaje de 8 réplicas.

10 (7C) Medida de la actividad de HMGCR en presencia de Mono-AP1 25  $\mu$ M, Monop-AP21 25  $\mu$ M y Mono-AP28 25  $\mu$ M. Se usó pravastatina 1  $\mu$ M como control positivo. Los resultados se presentan en porcentaje del control. Cada punto representa la media +/- SD del porcentaje de 8 réplicas.

## Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona nuevos compuestos que inhiben la prenilación de proteínas y que son así útiles para prevenir o tratar cualquier enfermedad o trastorno que requiera una inhibición de la prenilación de proteínas.

15 Más precisamente, se ha encontrado según la presente invención que una clase de compuestos de aminopirimidina son inhibidores de la prenilación de proteínas, compuestos que se especifican en la presente descripción.

Según se muestra en los ejemplos de la presente, estos compuestos de aminopirimidina inhiben eficazmente la prenilación de proteínas, y más precisamente la farnesilación de proteínas, mientras que carecen de toxicidad.

20 También se ha mostrado en la presente que la inhibición de la prenilación de proteínas por estos compuestos de aminopirimidina es ejercida por una elección como diana específica de enzimas de prenilación, lo que abarca enzimas de farnesilación tales como farnesil pirofosfato sintasa (FPPS).

25 Usando un modelo celular de células madre mesodérmicas obtenidas al reprogramar fibroblastos que se originan a partir de individuos afectados con progeria, se ha observado en la presente que estos compuestos de aminopirimidina son capaces de restaurar un fenotipo normal, notadamente al inhibir la farnesilación de prelamina A.

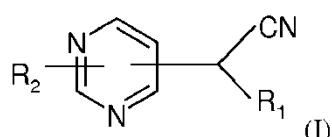
30 Se observa en la presente que estos nuevos compuestos de aminopirimidina son capaces de librarse de anormalidades de la conformación nuclear encontradas en la progeria.

Además, se muestra en la presente que estos nuevos compuestos de aminopirimidina libran al fenotipo relacionado con la enfermedad de la diferenciación prematura de células madre mesodérmicas que se originan a partir de individuos afectados con progeria.

35 También se muestra en la presente que estos compuestos de aminopirimidina carecen de toxicidad, incluyendo carencia de citotoxicidad. Notablemente, estos compuestos de aminopirimidina tienen un efecto reducido o no lo tienen sobre la proliferación celular, y tampoco sobre el metabolismo energético celular.

40 El presente texto describe un compuesto o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, que se elige alternativamente entre:

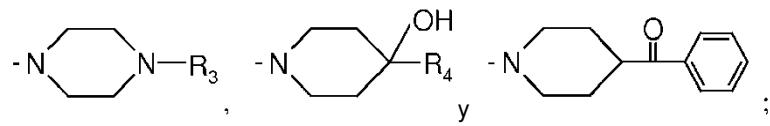
45 (1)



en donde

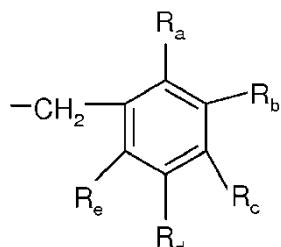
R1 es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



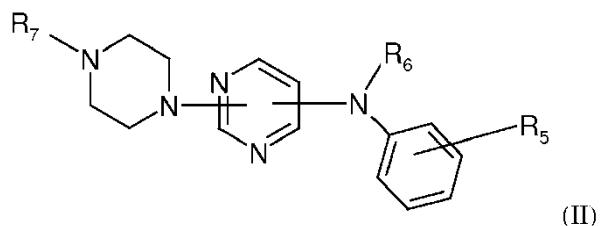
representando R<sub>3</sub> un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,
- 5 - un grupo heteroarylcarbonilo,
- un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmetilo y



10 - un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno, y siendo R<sub>4</sub> un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo; y

(2)



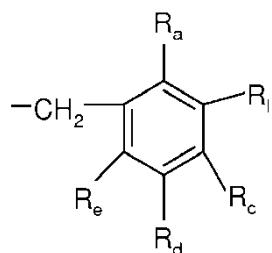
en donde

15 R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-4);

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-4); y

R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

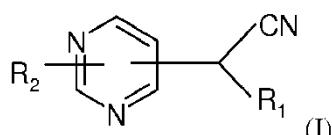
- un grupo arilcarbonilo,
- 20 - un grupo heteroarylcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-4) y un grupo fenilo,
- un grupo heteroarylacetilo opcionalmente sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,
- un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmetilo y



- un grupo , siendo  $R_a$ ,  $R_b$ ,  $R_c$ ,  $R_d$  y  $R_e$ , independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo ( $C_1-C_4$ ) o un grupo alcoxi ( $C_1-C_4$ ), formando juntos opcionalmente  $R_a$  y  $R_b$ , o  $R_b$  y  $R_c$ , o  $R_c$  y  $R_d$ , o  $R_d$  y  $R_e$  con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno.

- 5 Según un primer aspecto, una materia de la presente invención se refiere a un compuesto o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, en donde las enfermedades o los trastornos se seleccionan de una progeria, una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad metabólica; una enfermedad mitocondrial, una enfermedad ocular, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad cardiovascular, una enfermedad proliferativa, una enfermedad inmunitaria, infarto cerebral, envejecimiento cutáneo, envejecimiento hormonal e infección viral, que se elige alternativamente entre
- 10

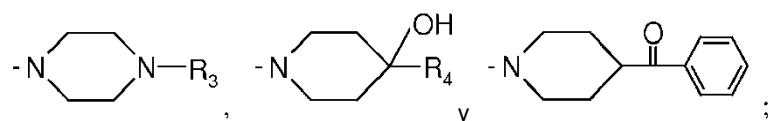
(1)



- 15 en donde

$R_1$  es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

$R_2$  representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

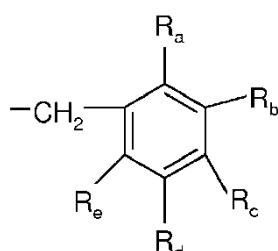


representando  $R_3$  un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- 20 - un grupo arilcarbonilo,

- un grupo heteroarylcarbonilo,

- un grupo alcoxi( $C_1-C_4$ )-carbonilmetilo y



- un grupo , siendo  $R_a$ ,  $R_b$ ,  $R_c$ ,  $R_d$  y  $R_e$ , independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo ( $C_1-C_4$ ) o un grupo alcoxi ( $C_1-C_4$ ), formando juntos opcionalmente  $R_a$  y  $R_b$ , o  $R_b$  y  $R_c$ , o  $R_c$  y  $R_d$ , o  $R_d$  y  $R_e$  con el átomo de carbono al que están ligados

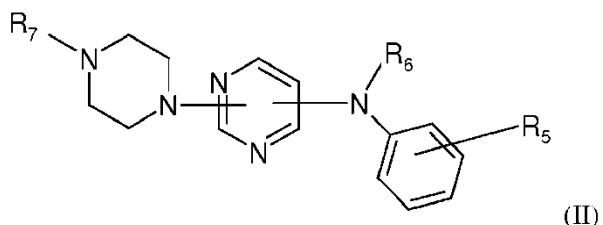
25

un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno, y siendo R<sub>4</sub> un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo;

con la condición de que

R<sub>3</sub> no sea un grupo no sea un grupo 4-metilbencilo cuando R<sub>1</sub> sea 2-piridilo, y

5 (2)



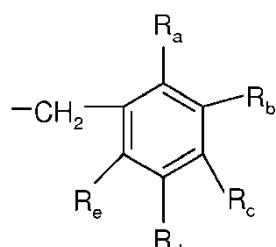
en donde

R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>);

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>); y

10 R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,
- un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y un grupo fenilo,
- un grupo heteroarilacetilo opcionalmente sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,
- un grupo alcoxi(C<sub>1-C4</sub>)-carbonilmethyl y



- un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1-C4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1-C4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno,

20 con la condición de que

R<sub>7</sub> no sea un grupo indol-3-ilacetilo cuando R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> sean ambos un grupo metilo,

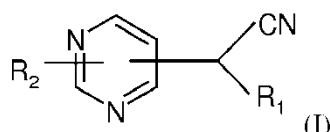
en donde:

- arilo significa un radical hidrocarbonado aromático monocíclico o bicíclico monovalente de 6 a 10 átomos de anillo, y

- heteroarilo se refiere a un radical aromático monocíclico o bicíclico monovalente de 5 a 10 átomos de anillo donde uno o más, preferiblemente uno, dos o tres átomos de anillo son un heteroátomo seleccionado de N, O o S, siendo carbono los átomos de anillo restantes.

5 El presente texto describe un compuesto o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, que se elige alternativamente entre

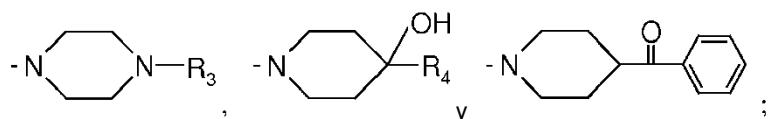
(1)



10 en donde

R<sub>1</sub> es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

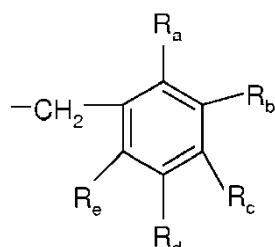
R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



representando R<sub>3</sub> un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

15 un grupo heteroarilcarbonilo,

un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmetilo y



- un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno,

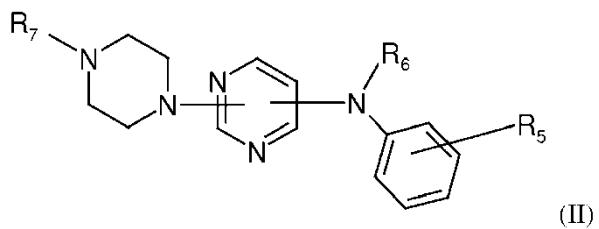
20

y siendo R<sub>4</sub> un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo;

con la condición de que

R<sub>3</sub> no sea un grupo 4-metilbencilo cuando R<sub>1</sub> sea 2-piridilo, y

(2)



en donde

R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>);

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>); y

5 R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y un grupo fenilo, y

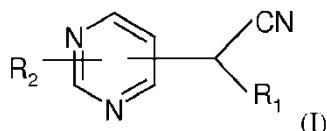
- un grupo heteroarilacetilo opcionalmente sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,

con la condición de que

10 R<sub>7</sub> no sea un grupo indol-3-ilacetilo cuando R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> sean ambos un grupo metilo.

El presente texto describe además un compuesto o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, que se elige alternativamente entre

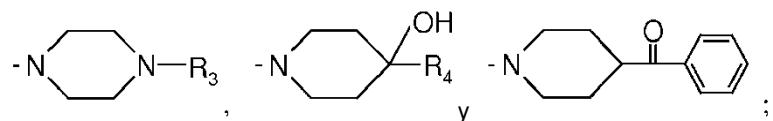
15 (1)



en donde

R<sub>1</sub> es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



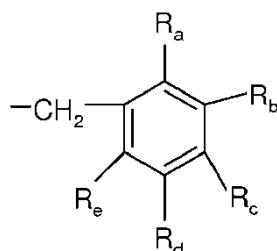
20

representando R<sub>3</sub> un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,

- un grupo heteroarilcarbonilo,

- un grupo alcoxi(C<sub>1-C4</sub>)-carbonilmetilo y

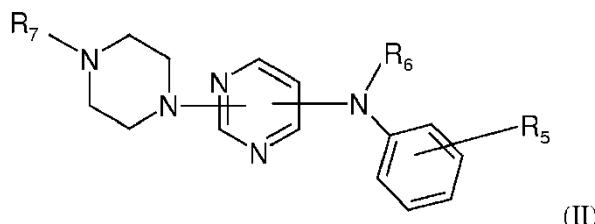


5 - un grupo , siendo  $R_a$ ,  $R_b$ ,  $R_c$ ,  $R_d$  y  $R_e$ , independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), formando juntos opcionalmente  $R_a$  y  $R_b$ , o  $R_b$  y  $R_c$ , o  $R_c$  y  $R_d$ , o  $R_d$  y  $R_e$  con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno, y siendo  $R_4$  un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo;

con la condición de que

$R_3$  no sea un grupo 4-metilbencilo cuando  $R_1$  sea 2-piridilo, y

(2)



10 en donde

$R_5$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-4);

$R_6$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-4); y

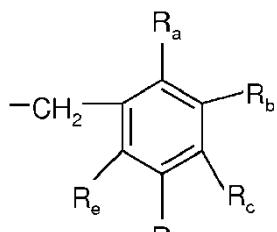
$R_7$  representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,

15 - un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-4) y un grupo fenilo,

- un grupo heteroarilacetilo opcionalmente sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,

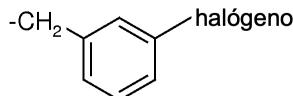
- un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmethyl y



20 - un grupo , siendo  $R_a$ ,  $R_b$ ,  $R_c$ ,  $R_d$  y  $R_e$ , independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), formando juntos opcionalmente  $R_a$  y  $R_b$ , o  $R_b$  y  $R_c$ , o  $R_c$  y  $R_d$ , o  $R_d$  y  $R_e$  con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno,

con la condición de que

R<sub>7</sub> no sea un grupo indol-3-ilacetilo cuando R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> sean ambos un grupo metilo,

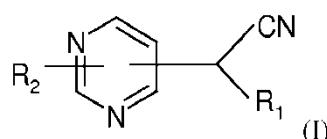


R<sub>7</sub> no sea un grupo

cuando R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> sean ambos un grupo metilo.

El presente texto también describe un compuesto o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, que se elige alternativamente entre

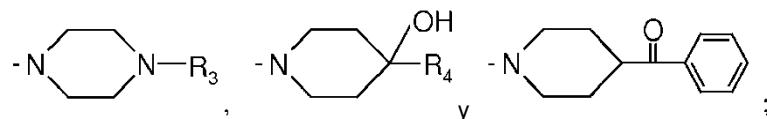
(1)



en donde

10 R<sub>1</sub> es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

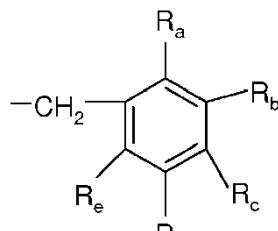
R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



representando R<sub>3</sub> un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo heteroarilcarbonilo,

15 - un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmetilo y



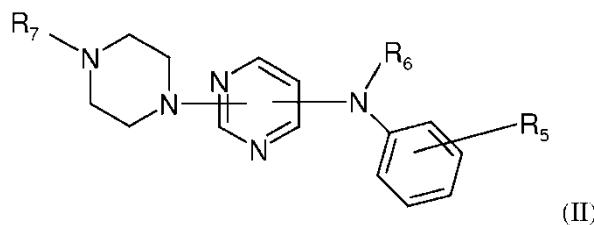
- un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno,

20 y siendo R<sub>4</sub> un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo;

con la condición de que

R<sub>3</sub> no sea un grupo 4-metilbencilo cuando R<sub>1</sub> sea 2-piridilo, y

(2)



en donde

R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>);

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>); y

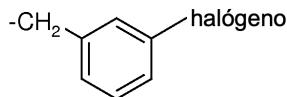
5 R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y un grupo fenilo, y

- un grupo heteroarilacetilo opcionalmente sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,

con la condición de que

10 R<sub>7</sub> no sea un grupo indol-3-ilacetilo cuando R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> sean ambos un grupo metilo,

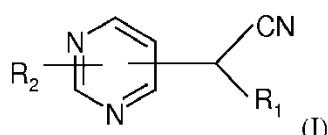


R<sub>7</sub> no sea un grupo

cuando R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> sean ambos un grupo metilo.

En otra realización preferida, una materia de la presente invención se refiere a un compuesto o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente, que se elige alternativamente entre

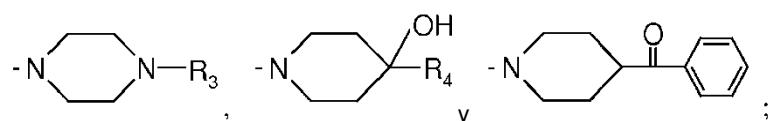
15 (1)



en donde

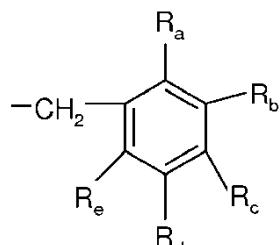
20 R<sub>1</sub> es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



representando R<sub>3</sub> un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

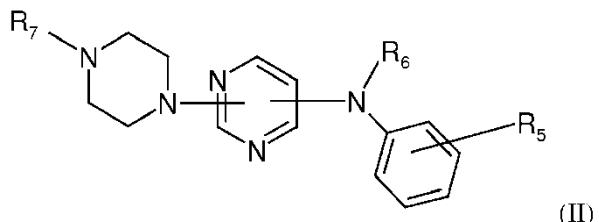
- un grupo arilcarbonilo,
- un grupo heteroarylcarbonilo,
- un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmethyl y



5 - un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y siendo R<sub>c</sub> un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno,

y siendo R<sub>4</sub> un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo; y

10 (2)



en donde

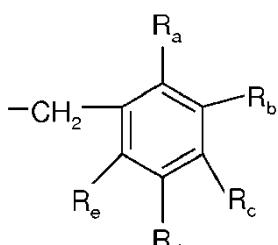
R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); y

15 R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,
- un grupo heteroarylcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) y un grupo fenilo,
- un grupo heteroarylacetilo sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,
- un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmethyl y

20

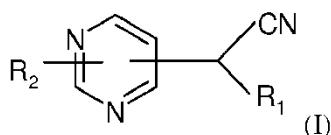


- un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), formando juntos

opcionalmente  $R_a$  y  $R_b$ , o  $R_b$  y  $R_c$ , o  $R_c$  y  $R_d$ , o  $R_d$  y  $R_e$  con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno.

5 El presente texto describe un compuesto o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, que se elige alternativamente entre

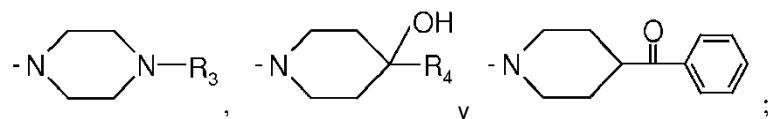
(1)



en donde

10  $R_1$  es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

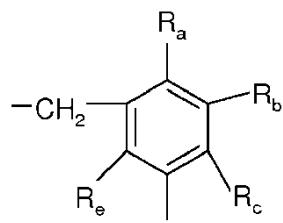
$R_2$  representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



representando  $R_3$  un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo heteroarilcarbonilo,

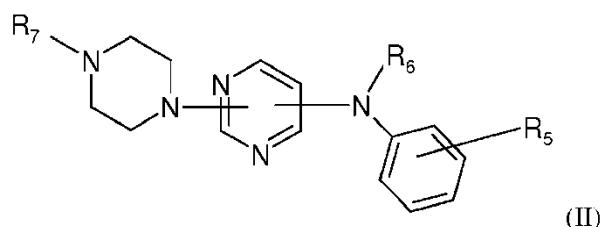
15 - un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmethyl y



20 - un grupo , siendo  $R_a$ ,  $R_b$ ,  $R_d$  y  $R_e$ , independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y siendo  $R_c$  un átomo de hidrógeno, o un átomo de halógeno, formando juntos opcionalmente  $R_a$  y  $R_b$ , o  $R_b$  y  $R_c$ , o  $R_c$  y  $R_d$ , o  $R_d$  y  $R_e$  con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno,

y siendo  $R_4$  un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo; y

(2)



en donde

R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>);

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>); y

R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- 5 - un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y un grupo fenilo, y
- un grupo heteroarilacetilo sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo.

Los compuestos de la invención pueden existir en la forma de bases libres o de sales por adición con ácidos farmacéuticamente aceptables.

10 Una "sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto significa una sal que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto original.

15 Sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables adecuadas de compuestos según la presente invención incluyen hidrocloruro, hidrobromuro, tartrato, fumarato, citrato, trifluoroacetato, ascorbato, triflato, mesilato, tosilato, formiato, acetato y malato.

20 Los compuestos de la presente invención y sus sales pueden formar solvatos (p. ej. hidratos) y la invención incluye todos estos solvatos.

25 En el contexto de la presente invención, el término:

- "halógeno" se entiende que significa cloro, flúor, bromo o yodo, y en particular indica cloro, flúor o bromo y más preferiblemente flúor,

25 - "alquilo (C<sub>1-C4</sub>)", según se usa en la presente, se refiere respectivamente a un hidrocarburo saturado normal, secundario o terciario C<sub>1-C4</sub>. Ejemplos son, pero no se limitan a, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo,

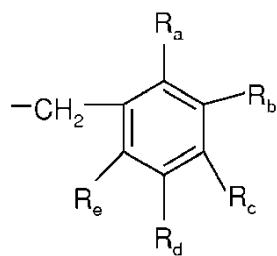
- "alcoxi (C<sub>1-C4</sub>)", según se usa en la presente, se refiere respectivamente a un resto O-alquilo(C<sub>1-C4</sub>), en donde el alquilo es como se define anteriormente. Ejemplos son, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, 1-propoxi, 2-propoxi,

30 - "aril" en la expresión "grupo arilcarbonilo" se entiende que significa un radical hidrocarbonado aromático monocíclico o bicíclico monovalente de 6 a 10 átomos de anillo. Ejemplos son, pero no se limitan a, fenilo, naftilo. Más preferiblemente, "aril" es fenil,

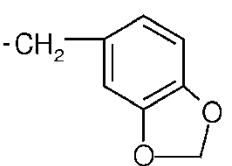
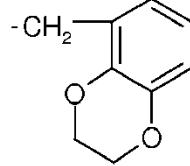
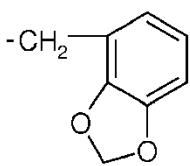
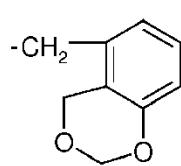
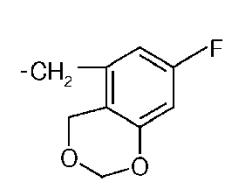
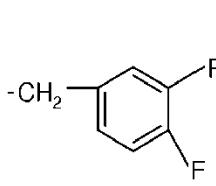
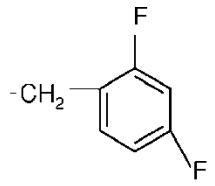
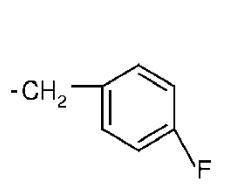
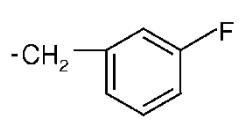
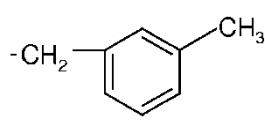
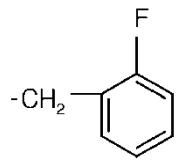
35 - "heteroaril" en las expresiones "grupo heteroarilcarbonilo" y "grupo heteroarilacetilo", según se usa en la presente, se refiere a un radical aromático monocíclico o bicíclico monovalente de 5 a 10 átomos de anillo donde uno o más, preferiblemente uno, dos o tres, átomos de anillo son un heteroátomo seleccionado de N, O o S, siendo carbono los átomos de anillo restantes. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, pirrolilo, tienilo, tiazolilo, imidazolilo, furanilo, indolilo, isoindolilo, oxazolilo, isoxazolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, piridinilo, pirimidinilo, piracínilo, piridacínilo, triazolilo, tetrazolilo, y similares. Preferiblemente, el heteroarilo es tienilo, furilo y más preferiblemente es tienilo, y

- "paciente" se puede extender a seres humanos o mamíferos, tales como gatos o perros.

En un aspecto particular, el siguiente grupo

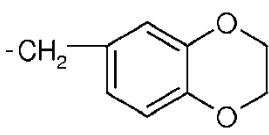


representa un grupo elegido de los siguientes grupos:

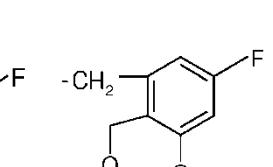
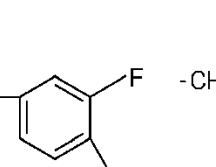
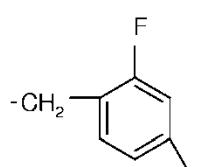
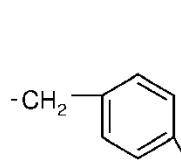
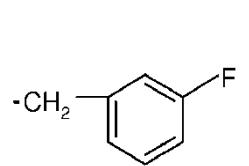
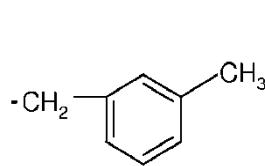
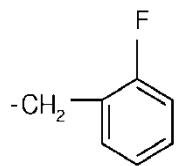


5

y



y más preferiblemente un grupo elegido de los siguientes grupos:



10

y

En una variante particular, la presente invención se dirige a un compuesto de fórmula (I) según se define anteriormente o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de

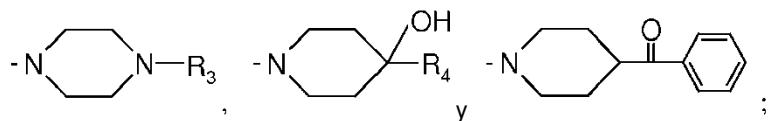
enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente,

en donde

5

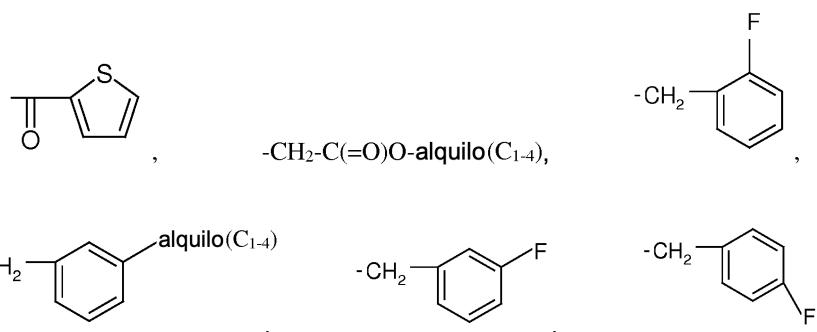
R<sub>1</sub> es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

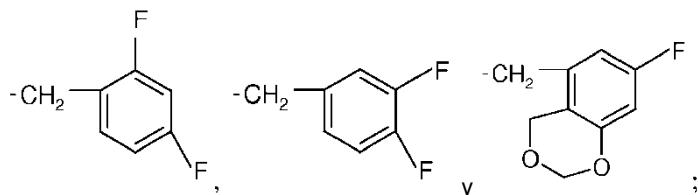


10

representando R<sub>3</sub> un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

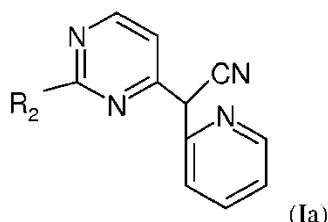


15



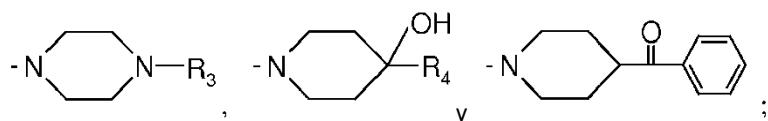
y siendo R<sub>4</sub> un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo.

20 La presente invención se refiere además a un compuesto de fórmula (Ia) como la definida posteriormente o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente,



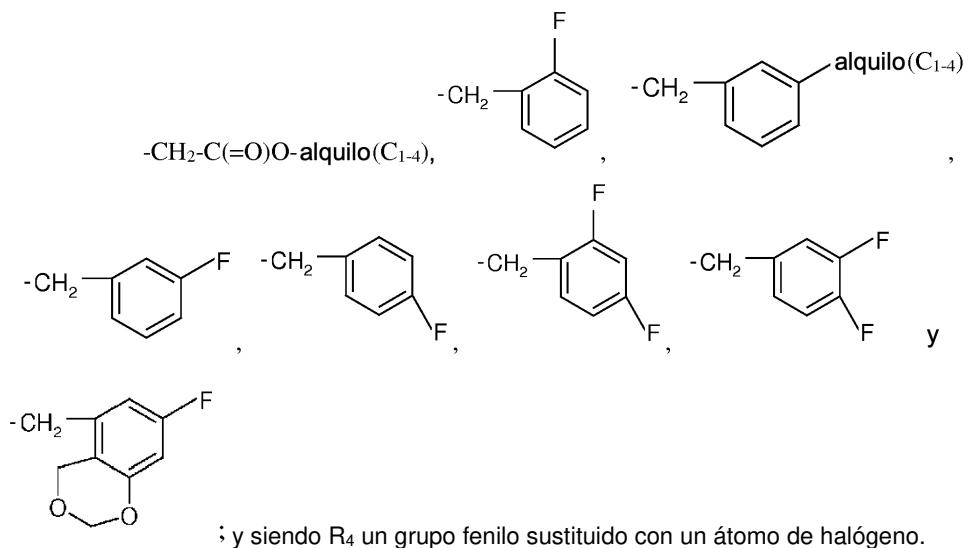
25

en donde R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

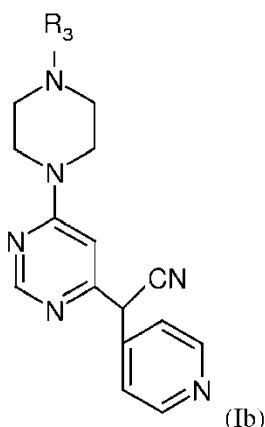


representando R<sub>3</sub> un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

30

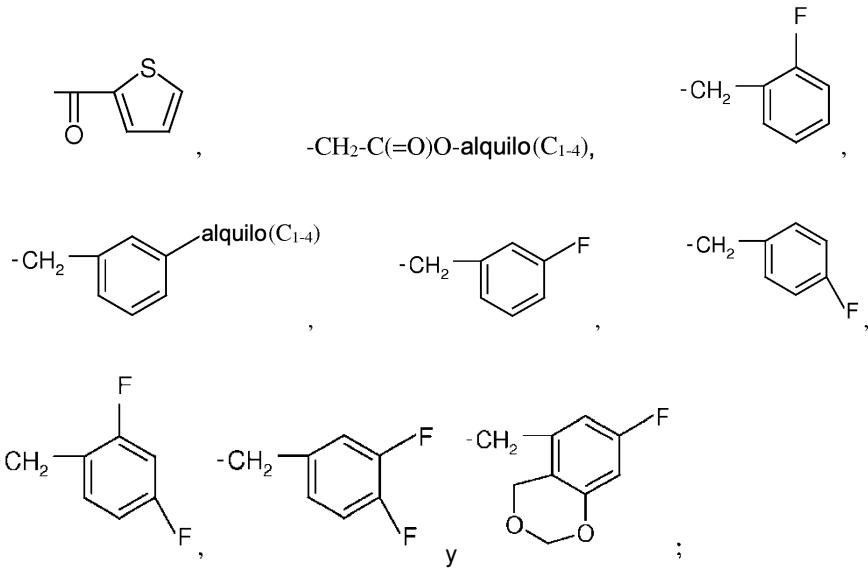


- 5 La presente invención se refiere además a un compuesto de fórmula (Ib) como la definida posteriormente o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente,

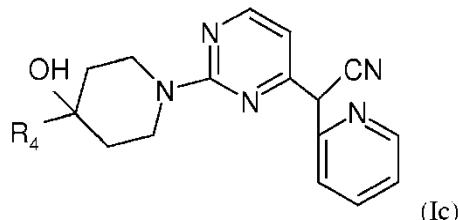


10

en donde  $R_3$  representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

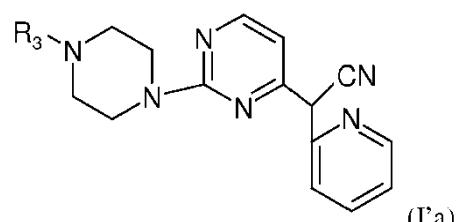


La presente invención se refiere además a un compuesto de fórmula (Ic) como la definida posteriormente o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente,

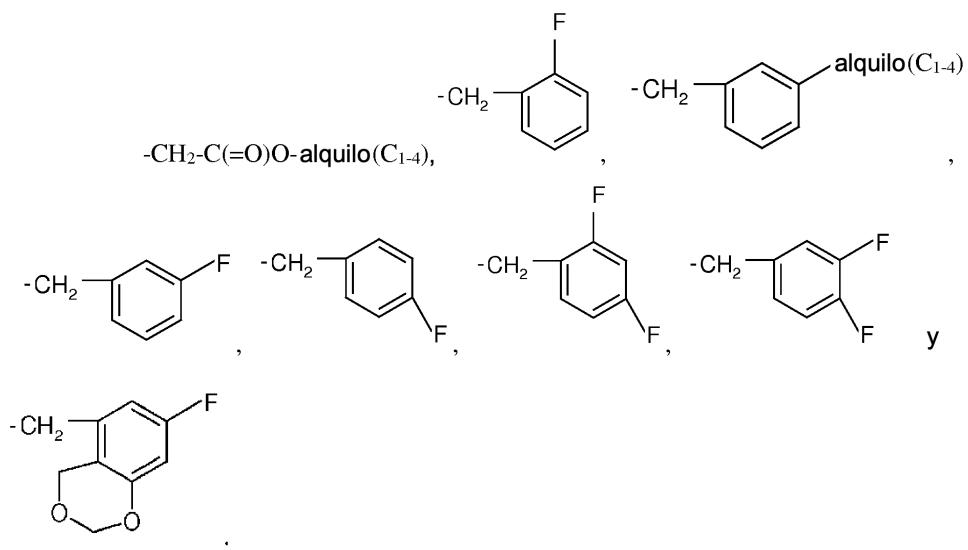


en donde R<sub>4</sub> es un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo.

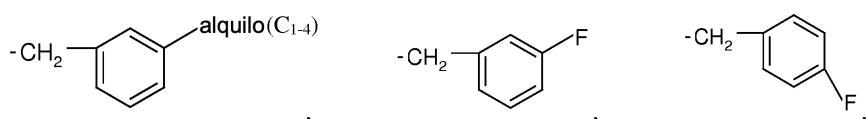
La presente invención se refiere además a un compuesto de fórmula (I'a) o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente,

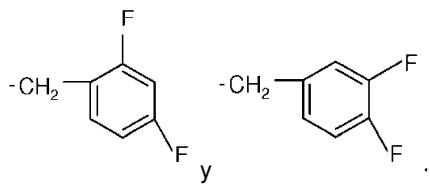


en donde R<sub>3</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

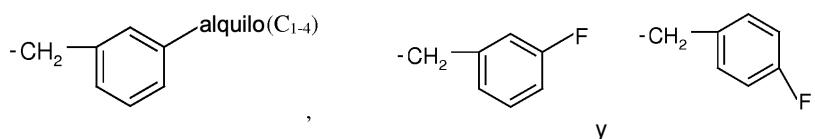


Según una realización preferida, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I'a) según se define anteriormente o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente, en donde R<sub>3</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:





5 El presente texto también describe un compuesto de fórmula (I'a) según se define anteriormente o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, en donde R<sub>3</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



10 En otra variante particular, la presente invención se dirige a un compuesto de fórmula (II) según se define anteriormente o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente,

en donde

15 R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>);

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>); y

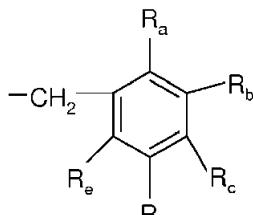
R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,

20 - un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y un grupo fenilo,

- un grupo heteroarilacetilo sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,

- un grupo alcoxi(C<sub>1-C4</sub>)-carbonilmetilo y



25 - un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>c</sub>, y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1-C4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1-C4</sub>), siendo R<sub>b</sub> y R<sub>d</sub> independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alcoxi (C<sub>1-C4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno.

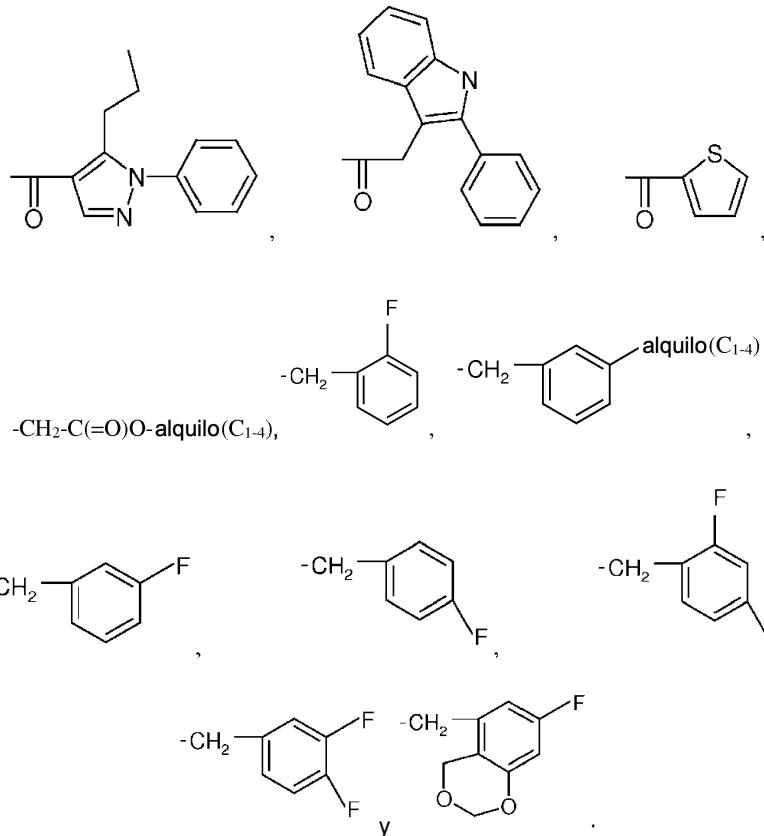
30 En otra variante particular, la presente invención se dirige a un compuesto de fórmula (II) según se define anteriormente o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente,

en donde

R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>);

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>); y

R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

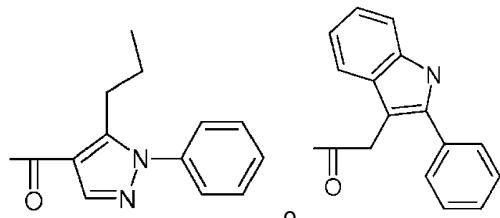


10 Según una realización preferida, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (II) según se define anteriormente o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente,

en donde

15 R<sub>5</sub> representa un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y preferiblemente un grupo metilo;

R<sub>6</sub> representa un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y preferiblemente un grupo metilo; y R<sub>7</sub> representa el siguiente grupo:

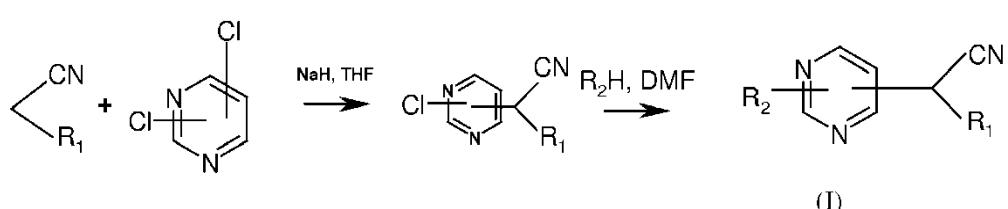


20 Según una realización preferida de la presente invención, el compuesto para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente, se elige entre:

- (1) {2-[4-(2-fluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP1
- (2) {2-[4-(4-Cloro-fenil)-4-hidroxi-piperidin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP9
- (3) [2-(4-Benzoyl-piperidin-1-il)-pirimidin-4-il]-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP16
- (4) {2-[4-(3-Metil-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP21
- 5 (5) {2-[4-(4-Fluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP24
- (6) Éster etílico de ácido {4-[4-(ciano-piridin-2-il-metil)-pirimidin-2-il]-piperacin-1-il}-acético, es decir Mono-AP25
- (7) {2-[4-(2,4-Difluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP26
- (8) {2-[4-(6-Fluoro-4H-benzo[1,3]dioxin-8-ilmetil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP27
- 10 (9) {2-[4-(3-Fluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP28
- (10) {2-[4-(3,4-Difluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP30
- (11) Piridin-4-il-{6-[4-(tiophene-2-carbonil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-acetonitrilo, es decir Mono-AP2
- (12) [2-(4-Bencil-4-hidroxi-piperidin-1-il)-pirimidin-4-il]-piridin-2-il-acetonitrilo, es decir Mono-AP3
- 15 (13) {4-[6-(Metil-m-tolil-amino)-pirimidin-4-il]-piperacin-1-il}-(1-fenil-5-propil-1H-pirazol-4-il)-metanona, es decir Di-AP2, y
- (14) 1-{4-[6-(Metil-m-tolil-amino)-pirimidin-4-il]-piperacin-1-il}-2-(2-fenil-1H-indol-3-il)-etanona, es decir Di-AP1, y sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica.
- 20 La presente invención también se refiere a un compuesto de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) según se definen anteriormente, como tales.
- Así, dichos compuestos (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8), (9), (10), (11), (12), (13) y (14) son nuevos y forman parte de la presente invención, así como una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables tales como hidrocloruro, hidrobromuro, tartrato, fumarato, citrato, trifluoroacetato, ascorbato, triflato, mesilato, tosilato, formiato, acetato y malato.
- 25 Por lo tanto, la presente invención se extiende a los compuestos (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8), (9), (10), (11), (12), (13) y (14) y sus sales farmacéuticamente aceptables, como tales.
- 30 Un compuesto de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) puede comprender uno o más átomos de carbono asimétricos. Así, pueden existir, según se menciona anteriormente, en la forma de enantiómeros o de diastereoisómeros. Estos enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo las mezclas racémicas, están abarcados dentro del alcance de la presente invención.
- 35 Según otro aspecto, la presente invención se refiere a compuestos de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) y los compuestos específicos (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8), (9), (10), (11), (12), (13) y (14) y sus sales farmacéuticamente aceptables para el uso como medicamentos.
- 40 Así, los nuevos compuestos de la presente invención, es decir compuestos de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a), y los compuestos específicos que se listan anteriormente son útiles como medicamentos y más particularmente se pueden usar para tratar y/o prevenir enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas. Dichas enfermedades o trastornos pueden incluir síndrome progérico de Hutchinson-Gilford (HGPS), progeria, una enfermedad neurodegenerativa, enfermedad de Parkinson, enfermedad de los cuerpos de Lewy difusa, atrofia sistémica múltiple, síndrome de Shy-Drager, degeneración estriatonigral, atrofia olivopontocerebelar, neurodegeneración asociada a pantotenato cinasa, deterioro cognitivo, demencia, una enfermedad del almacenamiento lisosómico, enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo II,

- mucopolisacardosis, mucolipidosis II, mucolipidosis III, mucusulfatidosis, deficiencia de proteína activadora de GM2 variante AB, enfermedad de Danon, enfermedad de Salla, enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Schindler, enfermedad de Kanzaki, alfa-manosidosis, beta-manosidosis, fucosidosis, sialidosis, aspartilglucosaminuria, síndrome glucoproteíncico deficiente en carbohidratos, enfermedad de Wolman, enfermedad de Farber, enfermedad de Niemann-Pick tipos A, B y C, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Krabbe, enfermedad de Fabry, múltiple deficiencia de sulfatasa, gangliosidosis GM1, gangliosidosis GM2, gangliosidosis GM3, galactosialidosis, cistinosis, enfermedad del almacenamiento de ácido siálico, picnodisostosis, leucodistrofia metacromática, galactosialidosis, lipofuscinosis neuronal ceroidea, lactosilceramidosis, enfermedad de Pompe, deficiencia de cobalamina tipo F, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer; una enfermedad mitocondrial, una enfermedad ocular, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad cardiovascular, una enfermedad proliferativa, depresión, ansiedad, una enfermedad inmunitaria, una enfermedad neoplásica, un tumor, un cáncer, una metástasis, una leucemia, un carcinoma, un melanoma, un sarcoma, un glioblastoma, un mieloma múltiple, un adenoma, una neoplasia, un neuroblastoma, un adenocarcinoma, un linfoma, un mieloma, un mieloma múltiple, un síndrome mielodisplásico, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia mielomonocítica crónica, metaplasia mieloide angiogénica, un mesotelioma, un glioma, aterosclerosis, cálculos biliares, colelitiasis, lipocalcinogranulomatosis, hipercolesterolemia, hiperlipoproteinemias, embolia por cristales de colesterol, infección del miocardio, infarto cerebral, angina de pecho, osteoporosis, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedad de Paget, neurofibromatosis tipo 1, síndrome de Leopard, síndrome de Noonan, síndrome de Legius, síndrome de Costello, fibromatosis gingival hereditaria tipo 1, síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, malformación capilar-malformación arteriovenosa, envejecimiento cutáneo, envejecimiento hormonal, envejecimiento cutáneo prematuro fotoinducido, miolipoenvejecimiento cutáneo, dermopatía restrictiva, alteración o pérdida del cabello, alopecia, infección por el virus de la hepatitis delta e infección viral.
- 25 Más particularmente, los tumores y los cánceres se seleccionan de cánceres y tumores de huesos, cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, colorrectales, vejiga urinaria, mama, estómago, ovarios, colon, recto, próstata, páncreas, pulmonares, pulmonares no microcíticos, pulmonares microcíticos, vagina, tiroides, cabeza y cuello.
- 30 Los compuestos de la presente invención se pueden preparar por métodos convencionales de la síntesis orgánica practicados por los expertos en la técnica. Las secuencias de reacción generales esbozadas posteriormente representan un método general útil para preparar los compuestos de la presente invención y no pretenden ser limitativas en alcance o utilidad.
- 35 Según se explica y se ilustra posteriormente en los esquemas 1, 2 y 3, están disponibles tres rutas, respectivamente la Ruta A, la Ruta B y la Ruta C, para recuperar un compuesto según la presente invención.

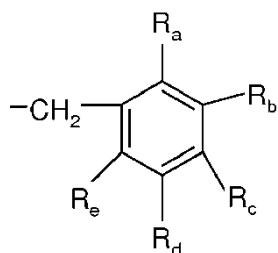
**Esquema 1: Ruta A**



- 40 Se añadió gota a gota una solución de un equivalente de un 2-piridilacetonitrilo, 3-piridilacetonitrilo o 4-piridilacetonitrilo a una suspensión de 1,1 equivalentes de hidruro sódico 0,1 M en tetrahidrofurano (THF), y preferiblemente un 2-piridilacetonitrilo 0,1 M en THF. La mezcla se agita durante 30 minutos y a continuación se enfriá hasta 0°C mediante un baño de hielo. Se añadió gota a gota una solución de un equivalente de una dícloropirimidina tal como 2,4-dícloropirimidina 1 M en dimetilformamida (DMF) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evapora parcialmente, se diluye con agua y se devuelve a pH 7 con HCl concentrado. La solución se extrae con acetato de etilo, la fase orgánica se seca y se evapora para dar un sólido naranja (producto intermedio halogenado) que se usaba sin purificación adicional.

- 45 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de la amina secundaria R<sub>2</sub>H apropiada y un equivalente de diisopropiletilamina (DIEA) y la mezcla de reacción se calienta a 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol.

50 La Ruta A es particularmente adecuada para compuestos de fórmula (I) en la que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> son según se definen anteriormente en la fórmula (I), representando R<sub>3</sub> un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmetilo o un grupo

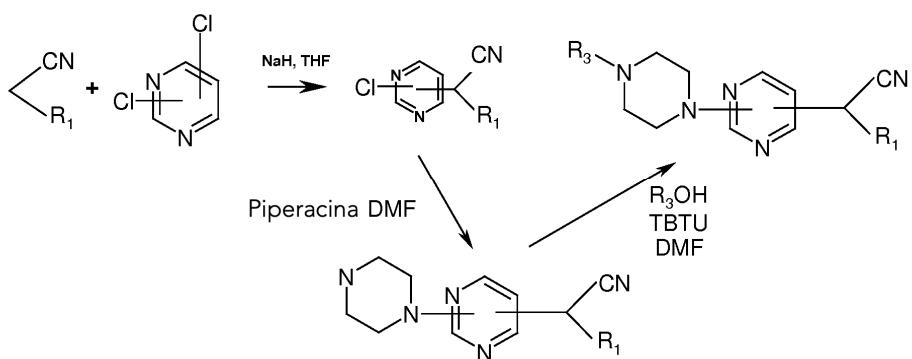


, siendo  $R_a$ ,  $R_b$ ,  $R_c$ ,  $R_d$  y  $R_e$  según se definen anteriormente en la fórmula (I).

Más particularmente, los compuestos (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8), (9), (10) y (12) se pueden preparar a través de la Ruta A, según se muestra posteriormente con más detalle en la parte experimental.

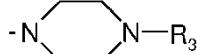
5

Esquema 2: Ruta B



Se añade gota a gota una solución de un equivalente de un 2-piridilacetonitrilo, 3-piridilacetonitrilo o 4-piridilacetonitrilo, y preferiblemente un 4-piridilacetonitrilo hasta 0,1 M en THF, a una suspensión de 1,1 equivalentes de hidruro sódico hasta 0,1 M en THF. La mezcla se agita durante 30 minutos y a continuación se enfriá hasta 0°C mediante un baño de hielo. Se añadió gota a gota una solución de un equivalente de 4,6-dicloropirimidina 1 M en DMF y la mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evapora parcialmente, se diluye con agua y se devuelve a pH 7 con HCl concentrado. La solución se extrae con acetato de etilo, la fase orgánica se seca y se evapora para dar un sólido naranja que se usó sin purificación adicional.

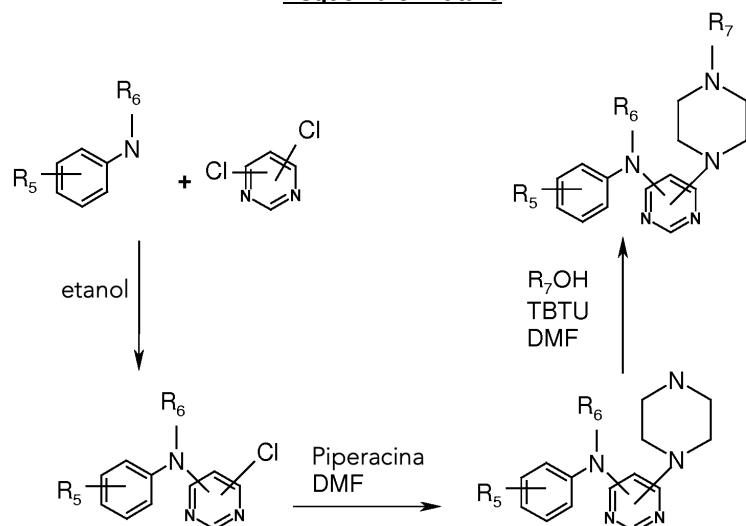
- 10 10 Se añade gota a gota una solución de un equivalente de un 2-piridilacetonitrilo, 3-piridilacetonitrilo o 4-piridilacetonitrilo, y preferiblemente un 4-piridilacetonitrilo hasta 0,1 M en THF, a una suspensión de 1,1 equivalentes de hidruro sódico hasta 0,1 M en THF. La mezcla se agita durante 30 minutos y a continuación se enfriá hasta 0°C mediante un baño de hielo. Se añadió gota a gota una solución de un equivalente de 4,6-dicloropirimidina 1 M en DMF y la mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evapora parcialmente, se diluye con agua y se devuelve a pH 7 con HCl concentrado. La solución se extrae con acetato de etilo, la fase orgánica se seca y se evapora para dar un sólido naranja que se usó sin purificación adicional.
- 15 15 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de 5 equivalentes de piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta a 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C<sub>18</sub> en un gradiente de agua/metanol.
- 20 20 El ácido se disuelve a 0,2 M en DMF en presencia de dos equivalentes de DIEA. Se añadió un equivalente de una solución 0,2 M de tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU) y la mezcla de reacción se agita 5 minutos. Se añadió un equivalente de amina de 0,2 M en DMF y el medio de reacción se agita durante 1 hora y a continuación se evapora. El residuo se redissolvió en acetato de etilo y se lavó con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 M y a continuación con agua. La fase orgánica se evapora y el producto se purificó sobre C<sub>18</sub> en un gradiente de agua/metanol.
- 25 25 La Ruta B es particularmente adecuada para compuestos de fórmula (I) en la que R<sub>1</sub> es según se define anteriormente en la fórmula (I), R<sub>2</sub> es



30 30 representando R<sub>3</sub> un grupo arilcarbonilo tal como un grupo benzoílo o un grupo heteroarilcarbonilo tal como un grupo tienilcarbonilo.

Más particularmente, el compuesto (11) se puede preparar a través de la Ruta B, según se muestra posteriormente con más detalle en la parte experimental.

### **Esquema 3: Ruta C**



- 5 Se añadió una solución de un equivalente de  $R_5$ -fenil-N- $R_6$  tal como N-metil-m-toluidina 0,1 M en etanol a una solución de un equivalente de dicloropirimidina tal como 4,6-dicloropirimidina en 0,1 M en etanol. El medio se somete a refluo durante 4 horas y a continuación se evapora parcialmente y se diluye con agua. La solución se extrae con acetato de etilo, la fase orgánica se seca y se evapora para dar un sólido que se usó sin purificación adicional.

10 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de 5 equivalentes de piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta a 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C<sub>18</sub> en un gradiente de agua/metanol

15 El ácido se disuelve a 0,2 M en DMF en presencia de dos equivalentes of DIEA. Se añadió un equivalente de una solución 0,2 M de TBTU y la mezcla de reacción se agita 5 minutos. Se añadió un equivalente de amina de 0,2 M en DMF y el medio de reacción se agita durante 1 hora y a continuación se evapora. El residuo se redissolvió en acetato de etilo y se lavó con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 M y a continuación con agua. La fase orgánica se evapora y el producto se purificó sobre C<sub>18</sub> en un gradiente de agua/metanol.

20 La Ruta C es particularmente adecuada para compuestos de fórmula (II) en la que  $R_5$  y  $R_6$  son según se definen anteriormente en la fórmula (II), y  $R_7$  es un grupo arilcarbonilo, un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) y un grupo fenilo y un grupo heteroarilacetilo opcionalmente sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo.

25 Más particularmente, los compuestos (13) y (14) se pueden preparar a través de la Ruta C, según se muestra posteriormente con más detalle en la parte experimental.

30 Las estructuras químicas y los datos de algunos compuestos según la invención se ilustran respectivamente en las siguientes Tabla I y Tabla II.

35 La caracterización de cada compuesto (1) a (14) según la invención se ha llevado a cabo a través de cromatografía de líquidos – espectrometría de masas (LC/MS).

35 Las condiciones analíticas son como sigue:

Dispositivo: HPLC Waters 2795 acoplado a un espectrómetro de masas Micromass / Waters Platform LC

Columna: Varian Pursuit C18 (2,0 x 20,0 mm, 5 micras)

Caudal: 0,8 ml / min

Tiempo de análisis: 5 min

Detección: Serie de diodos Waters 996 (180-500 nm)

Fases móviles: formiato amónico 10 mM en agua/metanol (9/1 en volumen) a pH 8 (A) y formiato amónico 10 mM en metanol (B).

Elución:

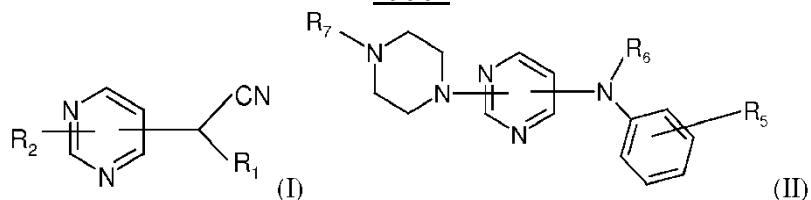
5

Tiempo (min)	A (% , v/v)	B (% , v/v)
0	100	0
0,2	100	0
2,7	0	100
4,4	0	100
5	100	0

Los espectros de masas se obtuvieron con una fuente de ionización con electropulverización (ES <+>).

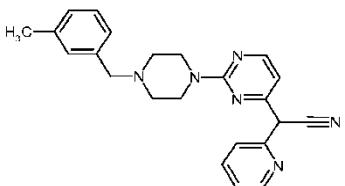
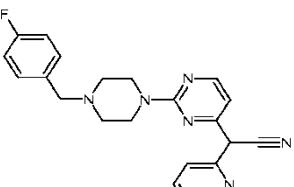
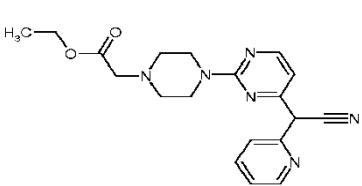
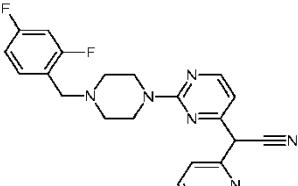
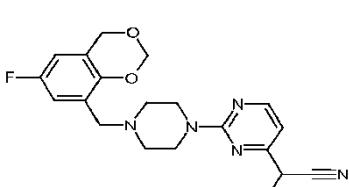
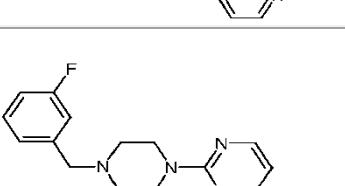
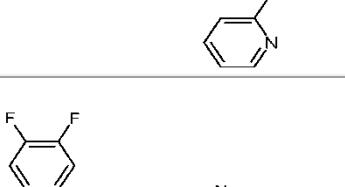
10 Por otra parte, los datos de pureza, peso molecular y tiempo de retención para cada compuesto (1) a (14) según la invención se incluyen en la Tabla II.

**Tabla I**



**Fórmula (I)**

1 Mono-API	
2 Mono-AP9	
3 Mono-AP16	

4 Mono-AP21	
5 Mono-AP24	
6 Mono-AP25	
7 Mono-AP26	
8 Mono-AP27	
9 Mono-AP28	
10 Mono-AP30	

**Tabla II**

Ej	Caracterizaciones			
	Pureza (%)	Peso molecular (PM) (g/mol)	Tiempo de Retención (RT) (min)	M+1 (ES <+>)
1	94	388,4409832	2,79	389
2	93	405,88	2,82	406
3	92	383,44594	2,67	384
4	100	384,4771	2,99	385
5	97	388,4409832	2,79	389

6	87	366,41722	2,47	367
7	96	406,4314464	2,82	407
8	92	446,4770632	2,77	447
9	100	388,4409832	2,84	389
10	94	406,4314464	2,84	407
11	84	390,46276	2,46	391
12	98	385,46182	2,83	386
13	94	495,6189	2,83	496
14	100	516,63632	2,84	517

Métodos de administración de los compuestos de aminopiridina especificados en la presente así como composiciones farmacéuticas que contienen los mismos se describen en cualquier parte en la presente memoria descriptiva.

5 Los siguientes ejemplos ilustran con detalle la preparación de los compuestos (1) a (14) según la presente invención. Las estructuras del producto obtenido se han confirmado al menos mediante LC-MS.

### EJEMPLOS

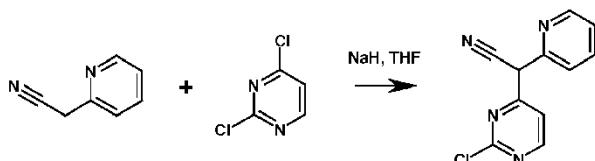
#### Ejemplo I: Preparación de compuestos según la presente invención

10 Según se menciona anteriormente:

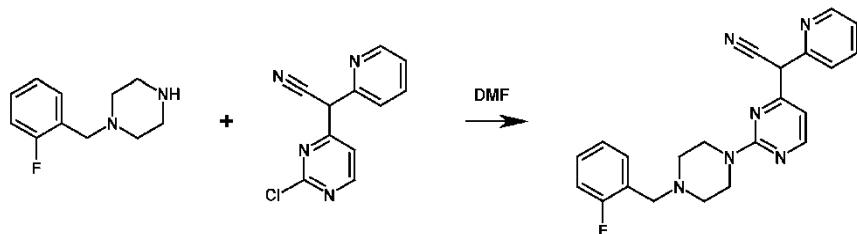
- los compuestos (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8), (9), (10) y (12) según la presente invención se pueden preparar a través de la Ruta A;
- el compuesto (11) según la presente invención se puede preparar a través de la Ruta B; y
- los compuestos (13) y (14) según la presente invención se pueden preparar a través de la Ruta C.

15 Ejemplo I-1: Mono-AP1, compuesto (1) de la Tabla I

#### Etapa 1



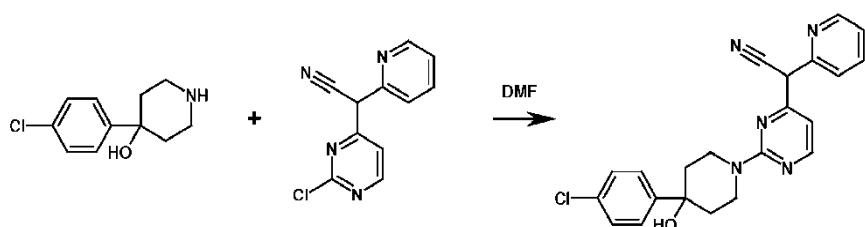
20 Se añadió gota a gota una solución de un equivalente de 2-piridilacetonitrilo 0,1 M en THF a una suspensión de 1,1 equivalentes de hidruro sódico 0,1 M en tetrahidrofurano (THF). La mezcla se agita durante 30 minutos y a continuación se enfriá hasta 0°C mediante un baño de hielo. Se añadió gota a gota una solución de un equivalente de 2,4-dicloropirimidina 1 M en dimetilformamida (DMF) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evapora parcialmente, se diluye con agua y se devuelve a pH 7 con HCl concentrado. La solución se extrae con acetato de etilo, la fase orgánica se seca y se evapora para dar un sólido naranja (producto intermedio halogenado) que se usó sin purificación adicional. El producto intermedio halogenado se obtiene con un rendimiento de 55%.

**Etapa 2**

- 5 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 1-(2-fluorobencil)piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta hasta 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. Se obtiene el compuesto (1) con un rendimiento de 82%.

**Ejemplo I-2: Mono-AP9, compuesto (2) de la Tabla I**

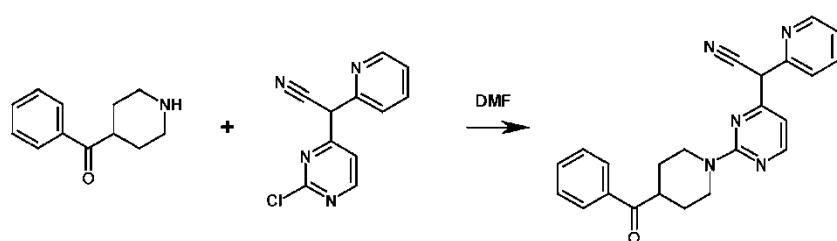
En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

- 10 15 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 4-(4-clorofenil)piperidin-4-ol y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta a 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. Se obtiene el compuesto (2) con un rendimiento de 80%.

**Ejemplo I-3: Mono-AP16, compuesto (3) de la Tabla I**

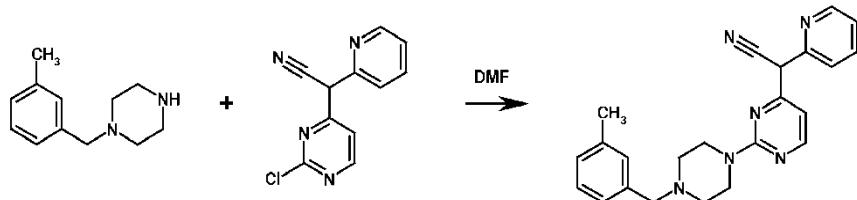
En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

- 20 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de hidrocloruro de fenil-piperidin-4-il-metanona y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta a 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. Se obtiene el compuesto (3) con un rendimiento de 75%.

**Ejemplo I-4: Mono-AP21, compuesto (4) de la Tabla I**

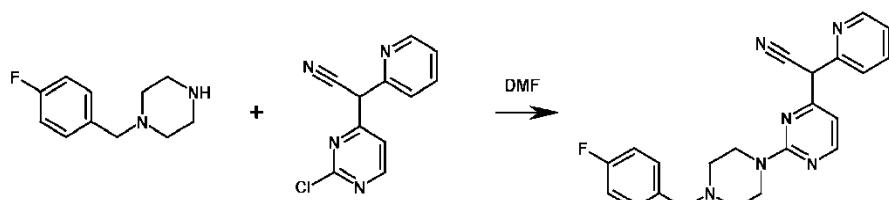
- 25 En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

- 5 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 1-(3-metilbencil)piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta hasta 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (4) se obtiene con un rendimiento de 84%.

**Ejemplo I-5: Mono-AP24, compuesto (5) de la Tabla I**

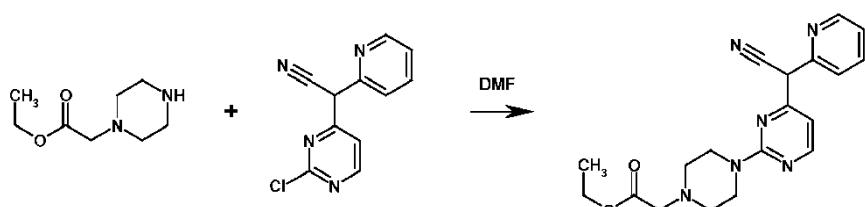
En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

- 10 15 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 1-(4-fluorobencil)piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta hasta 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (5) se obtiene con un rendimiento de 76%.

**Ejemplo I-6: Mono-AP25, compuesto (6) de la Tabla I**

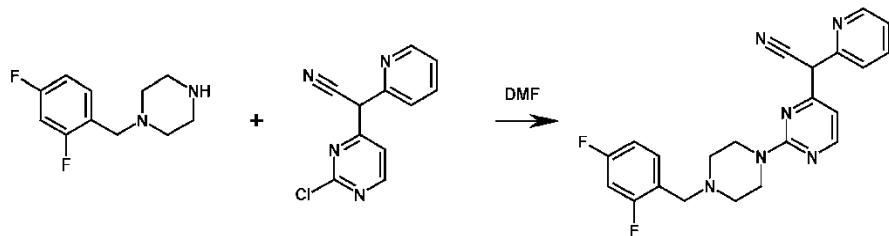
En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

- 20 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 1-(3-metilbencil)piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta hasta 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (6) se obtiene con un rendimiento de 84%.

**Ejemplo I-7: Mono-AP26, compuesto (7) de la Tabla I**

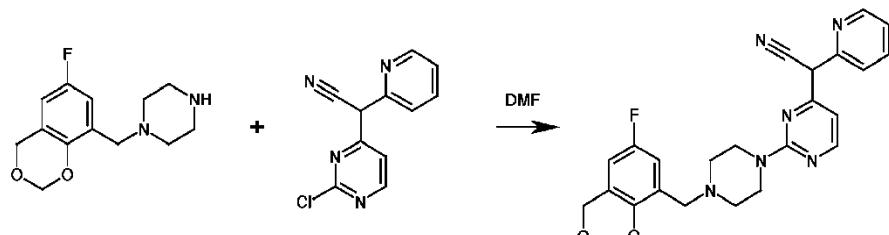
- 25 En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

- 5 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 1-(2,4-difluorobencil)piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta hasta 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (7) se obtiene con un rendimiento de 89%.

**Ejemplo I-8: Mono-AP27, compuesto (8) de la Tabla I**

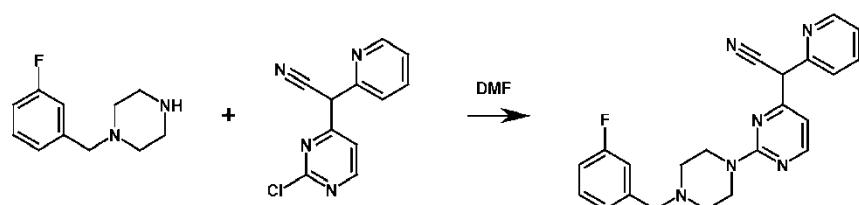
En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

- 10 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 1-(6-fluoro-4H-benzo[1,3]dioxin-8-ilmetil)piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta a 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (8) se obtiene con un rendimiento de 74%.

**Ejemplo I-9: Mono-AP28, compuesto (9) de la Tabla I**

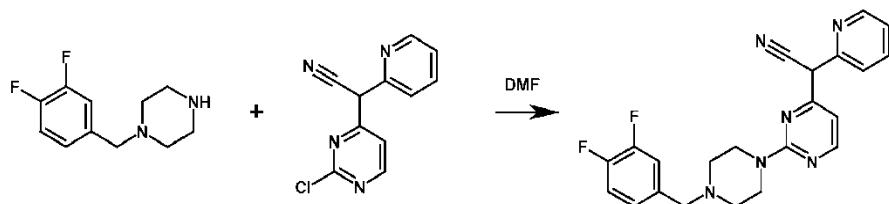
En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

- 20 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 1-(3-fluorobencil)piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta hasta 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (9) se obtiene con un rendimiento de 83%.

**Ejemplo I-10: Mono-AP30, compuesto (10) de la Tabla I**

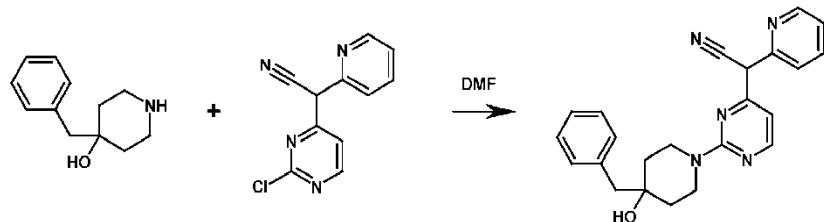
- 25 En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

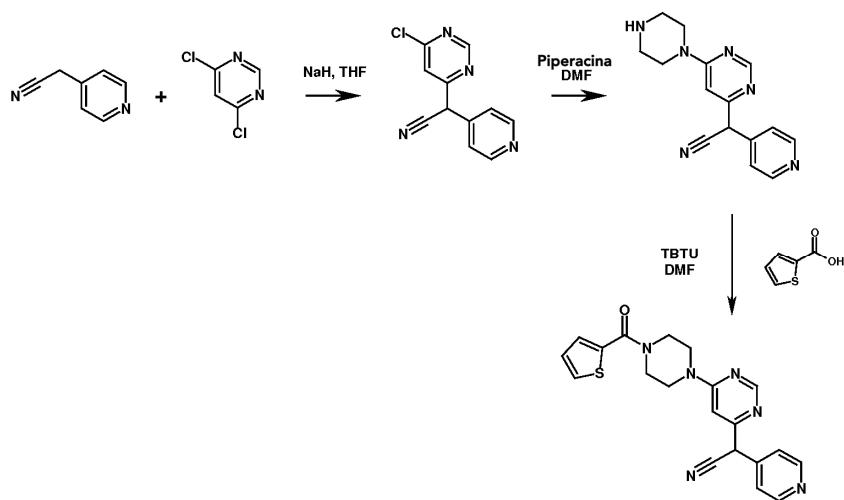
5 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 1-(3,4-difluorobencil)piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta hasta 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (10) se obtiene con un rendimiento de 87%.

**Ejemplo I-11: Mono-AP3, compuesto (12) de la Tabla I**

En primer lugar, se lleva a cabo la Etapa 1 según se describe en el Ejemplo I-1 anteriormente.

**Etapa 2**

10 15 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de un equivalente de 4-bencilpiperidin-4-ol y un equivalente de diisopropiletilamina (DIEA) y la mezcla de reacción se calienta hasta 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (12) se obtiene con un rendimiento de 71%.

**Ejemplo I-12: Mono-AP2, compuesto (11) de la Tabla I****Etapas 1, 2 y 3**

20 Se añade gota a gota una solución de un equivalente de 4-piridilacetonitrilo hasta 0,1 M en THF a una suspensión de 1,1 equivalentes de hidruro sódico hasta 0,1 M en THF. La mezcla se agita durante 30 minutos y a continuación

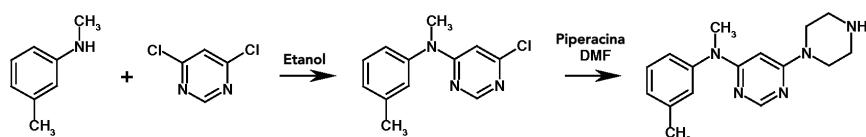
5 se enfria hasta 0°C mediante un baño de hielo. Se añadió gota a gota una solución de un equivalente de 4,6-dicloropirimidina 1 M en DMF y la mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evapora parcialmente, se diluye con agua y se devuelve a pH 7 con HCl concentrado. La solución se extrae con acetato de etilo, la fase orgánica se seca y se evapora para dar un sólido naranja que se usó sin purificación adicional.

10 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de 5 equivalentes de piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta a 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El producto intermedio se obtiene con un rendimiento de 50%.

15 El ácido 2-tiofenocarboxílico se disolvió a 0,2 M en DMF en presencia de dos equivalentes de DIEA. Se añadió un equivalente de una solución 0,2 M de tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU) y la mezcla de reacción se agita 5 minutos. Se añade un equivalente de producto intermedio de amina 0,2 M en DMF y el medio de reacción se agita durante 1 hora y a continuación se evapora. El residuo se redisolvió en acetato de etilo y se lavó con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 M y a continuación con agua. La fase orgánica se evapora y el producto se purificó sobre C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (11) se obtiene con un rendimiento de 70%.

#### Ejemplo I-13: Di-AP2, compuesto (13) de la Tabla I

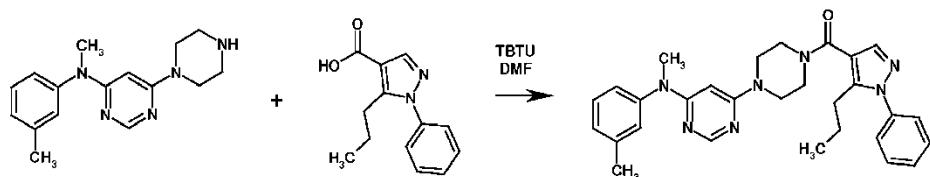
##### Etapa 1 y Etapa 2:



Se añadió una solución de un equivalente de N-metil-m-toluidina 0,1 M en etanol a una solución de un equivalente de 4,6-dicloropirimidina en 0,1 M en etanol. El medio se somete a refljo durante 4 horas y a continuación se evapora parcialmente y se diluye con agua. La solución se extrae con acetato de etilo, la fase orgánica se seca y se evapora para dar un sólido que se usó sin purificación adicional.

25 El producto intermedio halogenado se disuelve en 0,1 M en DMF en presencia de 5 equivalentes de piperacina y un equivalente de DIEA y la mezcla de reacción se calienta a 130°C durante 1 hora. El medio de reacción se evapora y el producto se purifica mediante cromatografía sobre un dispositivo semiautomático C18 en un gradiente de agua/metanol. El producto intermedio se obtiene con un rendimiento de 50%.

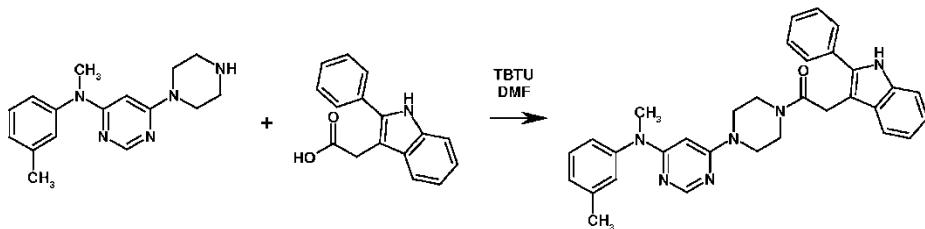
30 Etapa 3:



35 Se disuelve ácido 1-fenil-5-propil-1H-pirazol-4-carboxílico a 0,2 M en DMF en presencia de dos equivalentes de DIEA. Se añadió un equivalente de una solución 0,2 M de TBTU y la mezcla de reacción se agita 5 minutos. Se añade un equivalente de producto intermedio de amina 0,2 M en DMF y el medio de reacción se agita durante 1 hora y a continuación se evapora. El residuo se redisolvió en acetato de etilo y se lavó con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 M y a continuación con agua. La fase orgánica se evapora y el producto se purificó sobre C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (13) se obtiene con un rendimiento de 70%.

#### Ejemplo I-14: Pi-AP1, compuesto (14) de la Tabla I

40 Se llevan a cabo la Etapa 1 y la Etapa 2 según se definen anteriormente en el ejemplo I-13.

**Etapa 3:**

Se disuelve ácido (2-fenil-1H-indol-3-il)acético a 0,2 M en DMF en presencia de dos equivalentes de DIEA. Se añadió un equivalente de una solución 0,2 M de TBTU y la mezcla de reacción se agita 5 minutos. Se añade un equivalente de producto intermedio de amina 0,2 M en DMF y el medio de reacción se agita durante 1 hora y a continuación se evapora. El residuo se redissuelve en acetato de etilo y se lava con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 M y a continuación con agua. La fase orgánica se evapora y el producto se purificó sobre C18 en un gradiente de agua/metanol. El compuesto (14) se obtiene con un rendimiento de 74%.

**Ejemplo II: Datos farmacológicos****10 A. Materiales y Métodos****Reprogramación de fibroblastos**

Los fibroblastos usados en este estudio se aislaron de biopsias de pacientes realizadas en el Assistance Publique Hôpitaux de Marseille para el paciente 13-8243 y proporcionadas por Coriell Cell Repository (Camden, EE. UU. de A.) para el control DM4603. Los fibroblastos se reprogramaron hasta células iPS usando el método original de Yamanaka con OCT4, KLF4, SOX2, c-Myc, transferidos usando vectores retrovirales (Takahashi y cols., 2007, Cell 131, 861-872).

**Cultivo y diferenciación de células madre pluripotentes**

Se desarrollaron células iPS WT y HGPS sobre fibroblastos de ratón STO, inactivados con 10 mg/ml de mitomicina C sembrados a  $30000/\text{cm}^2$  y se desarrollaron según se describe previamente (Nissan y cols., 2012, Cell reports 2: 1-9).

Para la diferenciación, se diferenciaron iPSC en células madre mesenquimales MSC usando protocolos dirigidos para la diferenciación previamente publicados por el presente grupo (Nissan y cols., 2012, Cell reports 2: 1-9).

**Ensayo basado en células para la localización de prelamina A**

25 Se sembraron 2000 MSCs con HGPS en placas negras de fondo transparente de 384 pocillos (Corning). Después de 48 h de tratamiento farmacológico, las células se fijaron en paraformaldehído al 4% (15 minutos, temperatura ambiente). Se realizaron concomitantemente etapas de permeabilización, bloqueo e hibridación primaria en una solución de PBS complementada con 0,1% de triton X-100 y 1% de BSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE. UU. de A.) y anti-prelmina A de conejo (ANT0045, Diatheva) durante la noche a 4°C. Las células se tiñeron con el anticuerpo secundario contra inmunoglobulinas de conejo conjugado a fluoróforo específico de la especie (Invitrogen) (una hora, temperatura ambiente) y los núcleos se visualizaron con Hoechst 33342. Estas etapas se automatizaron usando una estación de lavado/tinción (ELx405 Bioteck, RapidStak Thermo, Multidrop Labsystems). La localización de prelmina A se analizó con un ArrayScan VTI HCS Reader (Cellomics). El primer canal se usó para la identificación de los núcleos (tinción con Hoechst 33342) y el segundo para identificar la tinción de prelmina A. Se adquirieron fotografías con un objetivo de 5 aumentos en modo de cámara de alta resolución y se analizaron usando la bioaplicación Spot Detector. La robustez del ensayo se evaluó usando el factor  $Z'$  calculado como sigue  $Z' = 1 - [3(\text{SDP} + \text{SDN}) / (\text{MP} - \text{MN})]$  donde MP y MN corresponden a las medias de los controles positivo (tipifarnib 1  $\mu\text{M}$ ) y negativo (DMSO 0,1%), respectivamente, y SDP y SDN corresponden a su desviación estándar.

**Tratamientos de Cribado Primario**

40 El cribado primario se efectuó en Biocell 1800 (Agilent). Para esto, se sembraron 2000 MSCs con HGPS en 38  $\mu\text{l}$  de medio de cultivo de FBS al 20% por pocillo en placas negras de fondo transparente de 384 pocillos revestidas con 0,1% de gelatina. Cinco horas después de la siembra, 2  $\mu\text{l}$  de 20X compuestos procedentes de las bibliotecas de

productos químicos se transfirieron una única vez a placas de ensayo celular. En cada placa, el control negativo (DMSO 0,1%) y el control positivo (tipifarnib 1  $\mu$ M) se añadieron en las columnas 1 y 2, respectivamente. A continuación, las placas se incubaron durante 48 horas y a continuación se procesaron para el ensayo de detección de prelamina A. Cada una de las 72 placas del cribado se trataron durante 48 horas, se fijaron y se tiñeron con el anticuerpo anti-prelamina A específico usando los protocolos optimizados descritos previamente. Para prevenir el descubrimiento de moléculas tóxicas, el número de células por campo se verificó en paralelo y los candidatos que mostraban una mortalidad superior a 30% se excluyeron antes de su validación y su evaluación de fenotipos secundarios fenotípicos.

#### **Biblioteca de productos químicos**

La biblioteca de productos químicos incluye 21.608 compuestos que pertenecen a 4 bibliotecas diferentes distribuidas en formato de placa de 384 pocillos y obtenidas de Prestwick Chemical (Illkirch, Francia), LOPAC (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE. UU. de A.), CHEM-X-INFINITY (Romainville, Francia) y Curie Institute (Orsay, Francia). La biblioteca de Prestwick Chemical contiene 1120 fármacos aprobados por la FDA. Esta biblioteca se probó a dos concentraciones: 0,2  $\mu$ M y 5  $\mu$ M. La biblioteca de LOPAC (Sigma-Aldrich) contiene una colección de 1280 compuestos farmacológicamente activos. Esta biblioteca se probó a dos concentraciones: 0,2  $\mu$ M y 10  $\mu$ M. La biblioteca de Chem-X-Infinity está compuesta por 10568 moléculas orgánicas pequeñas que pertenecen a aproximadamente 30 familias químicas diferentes. Esta biblioteca se probó a la concentración de 5  $\mu$ M. La biblioteca de Institute Curie contiene 8.640 moléculas pequeñas que se obtuvieron durante programas de optimización contra diferentes dianas terapéuticas incluyendo anti-HIV, anti-cinasas, interacciones proteína-proteína, inhibidores de fosfatasa. Esta biblioteca se probó a 2,5  $\mu$ g/ml que corresponde a concentraciones comprendidas entre 2 y 15  $\mu$ M.

#### **Análisis de datos**

El análisis de datos del cribado se realizó usando una aplicación Hiscreen personalizada (Discngine, París, Francia) conectada al software Spotfire (Tibco Co). La robustez del cribado se evaluó al calcular para cada placa el factor Z' sobre el porcentaje del parámetro de núcleos de prelamina A. Los datos brutos relacionados con el porcentaje de células con núcleos de prelamina A y con el número de células por campo se normalizaron a la media de controles de DMSO. La selección de aciertos se realizó usando en paralelo una placa de puntuación Z y un método de prueba de puntuación Z sobre estos datos normalizados. Solamente los aciertos cuya placa de puntuación Z y/o prueba de puntuación Z fuera  $\geq 3$  y que no disminuyeran el número de células en más de 30% en comparación con la condición de DMSO se seleccionaron para etapas de validación posteriores. Estos últimos se volvieron a probar por cuadruplicado a la misma concentración que para el cribado primario. A continuación, los aciertos validados se probaron a concentraciones graduales para la exploración paralela de su eficacia, potencia y toxicidad.

#### **Diferenciación osteogénica**

Las MSC se sembraron a 600 células por pocillo en una placa de 384 pocillos en medio de cultivo para MSC y se trataron como se describe previamente. Despues de 72 horas, el medio para MSC se reemplazó por medio de inducción osteogénica STEMPRO (Invitrogen) en presencia o no de los diferentes fármacos. Despues de 7 días de tratamiento, las células se fijaron con etanol al 95% y se tiñeron al añadir bien un sustrato colorimétrico de la fosfatasa alcalina, el fosfato de 5-bromo-4-cloro-3-indolilo/nitroazul tetrazolio (NBT) (Sigma-Aldrich), o bien un sustrato cromogénico de esta enzima (absorbancia a 405 nm), el fosfato de p-nitrofenilo (pNPP) (Pierce Biotechnology).

#### **Inmunocitoquímica**

En el protocolo en 4 etapas, las células se fijaron en paraformaldehído al 4% (15 minutos, temperatura ambiente) antes de la permeabilización y el bloqueo en PBS complementada con 0,1% de triton X-100 y 1% de BSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE. UU. de A.). Los anticuerpos primarios se incubaron una hora a temperatura ambiente en tampón de bloqueo. Los anticuerpos incluían anti-laminas A/C de ratón (clon JOL2, Millipore, Billerica, EE. UU. de A.), anti-prelamina A de conejo (ANT0045, Diatheva) y anti-Ki67 (clon Ki-S5, MAB4190, Millipore, Billerica, EE. UU. de A.). Las células se tiñeron con el anticuerpo secundario conjugado a flúor específico de la especie (Invitrogen) (una hora, temperatura ambiente) y los núcleos se visualizaron con Hoechst 33342.

#### **Medida de ATP**

HGPS y MSC de control se sembraron en una placa de 96 pocillos (3917, Corning) (5000 células/pocillo) y se trataron con los diferentes fármacos. Despues de 48 horas de tratamiento en dosis única, el contenido de ATP se midió usando CellTiter Glo® (Promega) según las recomendaciones del fabricante. La luminiscencia se midió con un lector de placas multimodal Analyst GT (Molecular devices). En paralelo, los núcleos teñidos con Hoechst 33342 se

contaron en cada pocillo gracias a un microscopio automatizado. Los resultados explotados se dan en la relación entre la medida de ATP y el número de núcleos contados.

#### Inmunotransferencia Western

5 Se recogieron lisados de células enteras MSC, se separaron mediante SDS-PAGE y se transfirieron sobre una membrana de PVDF mediante un método de transferencia de líquidos. Las transferencias se bloquearon en leche desnatada al 10% (Bio-Rad) en solución salina tamponada con tris con 0,1% de tween (TTBS) 1X una hora a temperatura ambiente. Los anticuerpos primarios usados eran anti-láminas A/C de ratón 1:200 (Millipore, JOL2), una anti-prelamina A de conejo 1/100 (ANTOO45, Diatheva) y una β-actina 1/200000 (Sigma). Las membranas se incubaron durante la noche a 4°C. La unión antígeno-anticuerpo se detectó usando anticuerpos secundarios específicos de una especie conjugados a peroxidasa de rábano picante (GE-Healthcare, Little Chalfont, Reino Unido) seguido por reactivos de detección de transferencia Western con quimioluminiscencia aumentada (Perkin-Elmer, Waltham, EE. UU. de A.).

10

15

20

25

#### PCR cuantitativa

15 El ARN total se aisló usando RNeasy Mini extraction kit (Qiagen, Courtaboeuf, Francia) según el protocolo del fabricante. Se realizó una digestión de ADNasa I en columna para evitar la amplificación del ADN genómico. El nivel y la calidad del ARN se verificaron usando la tecnología Nanodrop. Se usó un total de 500 ng de ARN para la transcripción inversa usando el estuche de transcripción inversa Superscript III (Invitrogen). El análisis por Q-PCR se realizó usando un sistema ABI 7900 (Applied biosystem) y TaqMan gene expression Master Mix (Roche) siguiendo las instrucciones del fabricante. La cuantificación de la expresión génica se basaba en el método DeltaCt y se normalizó sobre la expresión de 18S (Ensamo HS\_99999901\_S1). Los cebadores de PCR fueron descritos previamente por S. Rodríguez y colaboradores (Rodríguez S y cols., 2009, Eur J Hum Genet, VOL 17(7): 928-37). Las secuencias de los cebadores eran lámina A (exones 11/12), 5'-TCTTCTGCCTCCAGTGTACG-3'(**SEQ ID N°1**) y 5'-AGTTCTGGGGCTCTGGGT-3'(**SEQ ID N° 2**); lámina C (exones 9/10), 5'-CAACTCCACTGGGGAAAGAAGTG-3'(**SEQ ID N°3**) y 5'-CGGCAGCTACCACTCAC-3' (**SEQ ID N° 4**) y progerina (exones 11/12), 5'-ACTGCAGCAGCTCGGGG-3' (**SEQ ID N° 5**) y 5'-TCTGGGGCTCTGGGC-3'(**SEQ ID N° 6**).

20

25

30 Las secuencias de las sondas Taqman MGB eran lámina A (exón 11), 5'-ACTCGCAGCTACCG-3'(**SEQ ID N° 7**); lámina C (exón 10), 5'-ATGCGCAAGCTGGTG-3' (**SEQ ID N° 8**) y progerina (exón 11), 5'-CGCTGAGTACAACCT-3' (**SEQ ID N° 9**). Los tintes indicador y apagador para los ensayos de locus de LMNA eran 5' 6FAM y tinte apagador no fluorescente 3' (NFQ; Applied Biosystems).

#### Acoplamiento molecular

35 El análisis estructural y los estudios de acoplamiento se basan en la estructura cristalina disponible de the Protein Data Bank. La estructura de la cadena C y D de HMGCR se extrajo de un complejo con inhibidor basado en pirrol (PDB id: 2Q1L, resolución de 2,05 Å). hFPPS se modeló usando la estructura cristalina (PDB id: 1YV5, resolución de 2,00 Å), incluyendo sus tres átomos de magnesio pero excluyendo su ligando cocristalizado. Se usó la estructura cristalina de la farnesil transferasa (PDB id: 3E37, resolución de 1,80 Å), manteniendo su catión cinc pero retirando su inhibidor. Para ambas estructuras, se añadieron átomos de hidrógeno y el centro de masa de los ligandos cocristalizados experimentales se usó para definir el centro del sitio de unión, donde se realizaba la búsqueda de conformación. Se usó AutoDock 4.2.1 para todos los cálculos de acoplamiento, usando valores por defecto para los parámetros de acoplamiento excepto el número de pruebas de algoritmos genéticos (GA) que se incrementaba de 10 a 200 para incrementar la búsqueda de conformación. A continuación, las pruebas de GA independientes resultantes se procesaron usando análisis de aglomeración con un corte de 2,0 Å.

40

#### Ensamo de actividad colorimétrica de HMGCR

45 La actividad de HMGCR se midió usando HMGCoA Reductase Assay Kit (Sigma-Aldrich) según el protocolo del fabricante. El ensayo se basa en la medida espectrofotométrica de la disminución en la absorbancia a 340 nm, que representa la oxidación de NADPH por la subunidad catalítica de HMGCR en presencia del sustrato HMG CoA.

#### Preparación de lisados celulares para ensayos de actividad de FPPS y FT

50 Una pella celular de MSCs con HGPS se resuspendió en Tris-HCl 25 mM pH 7,4, DTT 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, EDTA 1 mM, PMSF 1 mM y se centrifugó a 10.000 x g durante 10 min a 4°C. El contenido de proteína se determinó usando el método de Lowry. Partes alícuotas de lisado celular que contenían 100 µg de proteínas totales se incubaron con las sustancias probadas a 37°C durante 30 min.

**Ensayo de actividad de FPPS**

El ensayo de FPPS se llevó a cabo con algunas modificaciones del procedimiento de Krisans y cols. (Krisans y cols., 1994, The Journal of biological chemistry VOL. 269: 14165-14169) y descrito por Gupta y cols. (Gupta y cols., 1999, Eur J Med Chem, VOL. 43: 2751-2767). Brevemente, la FPPS se ensayó en 150  $\mu$ l que contenían 25 mmol/l de

- 5 Hepes, pH = 7, 2 mmol/l de MgCl<sub>2</sub>, 1 mmol/l de ditiotreitol, 5 mmol/l de KF, 1% de noctil- $\beta$ -glucopiranósido, 3,3  $\mu$ Mol/l de [4-14C] IPP (18 Ci/mmol), 3  $\mu$ Mol/l de IPP no marcado y 20  $\mu$ Mol/l de difosfato de geranilo. Las reacciones se iniciaron al añadir 40  $\mu$ l de lisado celular tratado o no tratado y se incubaron durante 45 min a 37°C. Las reacciones se detuvieron mediante la adición de 150  $\mu$ l de 2,5 mol/l de HCl en etanol al 80% que contenía 100  $\mu$ g/ml de farnesol como un portador. Las muestras se hidrolizaron durante 30 min a 37°C para convertir el FPP en farnesol y se neutralizaron mediante la adición de 150  $\mu$ l de NaOH al 10%. El producto de reacción (farnesol) se extrajo en 1 ml de N-hexano y una parte alícuota (200  $\mu$ l) de la fase orgánica se usó para el recuento de radiactividad. Se ensayaron 10 muestras paralelas para evaluar la radiación total e inespecífica. En todos los experimentos, los ensayos enzimáticos se llevaron a cabo por triplicado.

**Ensayo de actividad de FT**

- 15 La actividad de FT se determinó mediante el ensayo enzimático de farnesiltransferasa [<sup>3</sup>H] SPA (Amersham Life Science, Buckinghamshire, Inglaterra). Brevemente, la actividad de FT se ensayó en 20  $\mu$ l de tampón de ensayo que contenía 50 mmol/l de Hepes, 30 mmol/l de MgCl<sub>2</sub>, 20 mmol/l de KCl y 5 mmol/l de ditiotreitol, 20  $\mu$ l de [<sup>3</sup>H]-FPP (12 pmol) y 20  $\mu$ l de biotina lamina B. Las reacciones se iniciaron al añadir 40  $\mu$ l de lisado celular tratado o no tratado y se incubaron durante 1 hora a 37°C. Las reacciones se detuvieron mediante la adición de 150  $\mu$ l de reactivo de 20  
20 detención que contenía cuentas de SPA y se contaron en un contador de centelleo. La actividad de FT se expresó como pmoles de [<sup>3</sup>H]-FPP incorporado en péptido de biotina lamina-B por minuto por miligramo de proteínas totales (pmol/min/mg de prot). Se ensayaron muestras paralelas para evaluar la radiactividad total e inespecífica. En todos los experimentos, los ensayos enzimáticos se llevaron a cabo por triplicado.
- 25 Medida de proteínas farnesiladas MSCs con HGPS se trataron 48 h con alcohol farnesílico Click-IT® (Life technologies) en presencia de los compuestos. Las proteínas farnesiladas se revelaron secundariamente usando azida Alexa Fluor® 555 (Life technologies) según el protocolo del fabricante.

**Resonancia plasmónica superficial**

- 30 La resonancia plasmónica superficial (SPR) se midió usando un instrumento BIAcore 3000 a 25°C. FPPS (2800 RU) se inmovilizó sobre celdillas de flujo de un chip CM5. El tampón de recorrido era HBSEP pH 7,4 (Hepes 20 mM, NaCl 150 mM y 0,005% de P20). La regeneración se realizó con glicina 10 mM, pH 3,0. Se realizaron medidas para determinaciones de afinidad de aglutinantes de FPPS con compuestos inyectados a concentraciones que variaban de 1,95 nM a 5  $\mu$ M. Los datos se evaluaron usando Scrubber2 (Biologic software) y software BIAeval (BIAcore).

**Medida de la farnesilación de Ras**

- 35 La farnesilación de Ras se midió al analizar la localización de GFP en MSCs con HGPS que sobreexpresan un plásmido que codifica la secuencia CaaX de hRas de mamífero fusionada a GFP en el extremo C.

**Obtención de Imágenes de Células Vivas**

- 40 Se sembraron MSCs con HGPS a 2500 células por pocillo en placas de 96 pocillos y se cultivaron durante 7 días en presencia de los fármacos. La densidad celular se verificó usando un microscopio IncuCyte ZOOM (Essen Bioscience). Cada valor corresponde a la media de densidades celulares de cuatro fotografías tomadas en tres pocillos independientes.

**Ánalisis estadístico**

- 45 El análisis estadístico se ha realizado mediante análisis unidireccional de varianza (ANOVA), usando la prueba de comparación de Dunnet. Los valores de  $p<0,05$  se consideraban significativos (\*  $p<0,05$ , \*\*  $p<0,01$ , \*\*\*  $p<0,001$ ).

## B Resultados

### **B.1. Identificación de inhibidores de la farnesilación de prelamina A mediante cribado de alto rendimiento**

Este estudio se realizó sobre MSCs derivadas de células iPS con HGPS, diferenciadas como se describe previamente (Blondel y cols., 2014, Stem Cells Transl Med, VOL. 3: 510-519) y usadas después de diez pasos de amplificación. La estrategia de cribado de fármacos se basaba en la detección de la localización subcelular de prelamina A, con la suposición de que su localización nuclear estaba directamente correlacionada con la inhibición de su farnesilación. Se desarrolló un ensayo de inmunotinción de alto rendimiento para cuantificar robustamente la expresión y la localización de prelamina A en placas de 384 pocillos. Se usaron DMSO 0,1% y un FTI (tipifarnib 1  $\mu$ M) como controles negativo y positivo, respectivamente. El ensayo de cribado de fármacos se optimizó a fin de obtener una tinción de prelamina A homogénea y reproducible en MSCs con HGPS tratadas con FTIs en placas de 384 pocillos. El control de calidad del ensayo se valoró mediante el cálculo de un factor Z' superior a 0,8 entre los controles negativo y positivo. A continuación, se probaron 21.608 moléculas pequeñas procedentes de 4 bibliotecas de compuestos diferentes siguiendo las diferentes etapas del procedimiento de cribado. La cuantificación de la localización de prelamina A se realizó usando una plataforma de obtención de imágenes automatizada que mide la proporción de MSCs con HGPS que presentaban tinción de prelamina A en el compartimento de la matriz nuclear 48 horas después del tratamiento farmacológico.

Los compuestos se consideraban candidatos potenciales cuando su efecto fuera superior a 3 desviaciones estándar de la media de todos los compuestos probados sin afectar a la viabilidad celular más de 30%. Esto conducía a una primera lista de 59 aciertos. Los nuevos experimentos de prueba excluían 43 de esos candidatos debido a que bien eran tóxicos o bien se consideraban falsos positivos.

El procedimiento de cribado de fármacos se completó para los 16 compuestos validados mediante una evaluación de su eficacia y toxicidad en dosisificaciones progresivamente mayores, revelando una eficacia superior a 50% sin toxicidad celular para 5 (**Figura 1**). La EC50 variaba entre 1  $\mu$ M y 34  $\mu$ M, con una meseta a las dosis atóxicas más altas por encima de 80% de localización de prelamina A nuclear (**Figura 1**). Se determinaron concentraciones óptimas para cada compuesto como las concentraciones eficaces más altas sobre la localización nuclear de prelamina A sin toxicidad, y se usaron posteriormente para los ensayos secundario y funcional. Los análisis por transferencia Western confirmaban que la prelamina A se incrementaba en células tratadas con cada uno de los 5 compuestos (Mono-AP1, Mono-AP2, Mono-AP3, Di-AP1 y Di-AP2) mientras que la PCR cuantitativa revelaba el efecto postraduccional de los fármacos que muestra que, excepto para uno (Di-AP1), ni la expresión de ARNm de lamina A ni de progerina se incrementaba después de los diferentes tratamientos (**Figura 5A y 5B**). Las inmunotinciones confirmaban la ausencia de efecto sobre la expresión de progerina a nivel proteínico en presencia de cualquiera de estos fármacos.

El análisis de la estructura química de los 5 aciertos mostraba que 5 de ellos contenían un grupo aminopirimidina (AP) con una, dos o cuatro uniones a átomos de nitrógeno, denominados respectivamente Mono-APs y Di-APs. Las medidas de la toxicidad celular demostraban que ninguno de estos compuestos era tóxico a dosis terapéuticas. Finalmente, la falta de selectividad para la farnesilación de prelamina A se demostraba al observar efectos similares sobre otras dos proteínas preniladas, HDJ2 y hRas. El análisis por transferencia Western de HDJ2 revelaban un incremento de la forma desfarnesilada de la proteína después de los tratamientos con Mono-AP1, Mono-AP2, Mono-AP3, Di-AP1 y Di-AP2. La farnesilación de hRas, según se mide por su localización en MSCs con HGPS que sobreexpresan un plásmido que codifica la secuencia CaaX de hRas de mamífero fusionada a GFP en el extremo C, mostraba un incremento significativo de la secuencia CAAX desfarnesilada en presencia de todos los compuestos. Estos resultados se confirmaron mediante una disminución global de los niveles de proteínas farnesiladas en MSCs con HGPS después del tratamiento con monoaminopirimidinas.

### **Efectos funcionales de los 5 aciertos sobre defectos asociados a HGPS**

Los 5 aciertos se evaluaron con respecto a su capacidad para rescatar anormalidades de la conformación nuclear. Las MSCs con HGPS se trataron 48 h en presencia de los diferentes compuestos y se tiñeron con respecto a lamina A/C. Mono-AP1, Mono-AP2 y Mono-AP3 eran los tres compuestos más eficaces, que restauran defectos de la conformación nuclear de MSCs con HGPS a niveles no significativamente diferentes del FTI tipifarnib usado como un control positivo. Di-AP2 también restauraba significativamente este defecto estructural patológico, mientras que Di-AP1 no era eficaz (**Figura 2A**). Las MSCs con HGPS exhiben una diferenciación prematura en el linaje osteoblástico (Blondel y cols., 2014, Stem Cells Transl Med VOL. 3: 510-519; Scaffidi y Misteli, 2008, Nat Cell Biol VOL. 10, 452-459). Según esto, el efecto de cada uno de los 5 aciertos se verificó sobre este deterioro funcional a través de una medida de la actividad de fosfatasa alcalina después de 7 días de diferenciación osteogénica. Todos los compuestos eran capaces de librarse intensamente de este fenotipo, a niveles para Mono-AP1 y Di-AP1 que no son significativamente diferentes de los observados después del tratamiento con FTI (**Figura 2B**).

Se valoraron los efectos adversos potenciales de los 5 compuestos al medir la proliferación celular y el metabolismo energético. La cuantificación de células proliferativas positivas a Ki-67 no revelaba una disminución de la proliferación de MSCs tratadas con los compuestos (**Figura 2C**). Es interesante mencionar que Di-AP1 era en cambio capaz de incrementar el número de células positivas a Ki-67 hasta 65%. Los resultados se confirmaron en cultivos de obtención de imágenes vivas a largo plazo que muestran que Mono-AP1, Mono-AP2 y Mono-AP3 eran menos citotóxicos que el FTI tipifarnib. Se midió el contenido de ATP de MSCs con HGPS, no revelando ningún efecto adverso de ninguna de estas moléculas sobre el metabolismo energético. Por el contrario, Di-AP1 incrementaba el contenido de ATP.

#### **Modo de acción de Monoaminopirimidinas**

10 Debido a que las Mono-APs eran los compuestos más eficaces para librarse de los dos defectos funcionales probados sin inducir efectos adversos, la última parte de este estudio que trataba del modo de acción de los fármacos se enfocaba en ellos.

15 Con ese propósito, una biblioteca de 47 análogos químicos se derivó de Mono-AP1 ({2-[4-(2-fluoro-bencil)-piperacina-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-4-il-acetonitrilo), y se evaluaron a una concentración de 10  $\mu$ M sobre la farnesilación de prelamina A. Este grupo de experimentos revelaba que 9 compuestos exhibían un efecto superior al 20% sobre la localización de prelamina A (**Figura 3A**). Los experimentos de respuesta a la dosis de estas 9 Mono-APs de segunda generación mostraban que solo dos de ellas, Mono-AP21 y Mono-AP28, eran más eficaces que Mono-AP1, con EC50s de 1,5  $\mu$ M y 2  $\mu$ M, respectivamente (**Figura 3B y 3C**). Después de los tratamientos con Mono-AP21 y Mono-AP28, se observaba una capacidad similar para librarse de los defectos de la conformación nuclear y la osteogénesis prematura en MSCs con HGPS.

20 La sustitución del grupo bencilo anexado al núcleo de piperacina con una cadena funcionalizada como -CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et, tal como en Mono-AP25, conducía a una disminución en la eficacia (**Figura 3B**).

25 Finalmente, las interacciones directas de Mono-AP1, Mono-AP2 y Mono-AP3 se valoraron virtualmente con tres encimas clave que controlan la prenilación de proteínas, HMG-CoA reductasa (HMGCR), farnesil pirofosfato sintasa (FPPS) y farnesil transferasa (FT), a fin de destacar caminos potenciales para la optimización de los compuestos. El cálculo de las energías de unión de Mono-APs con las tres enzimas indicaba una interacción potencial con los sitios activos de FPPS y FT, pero no HMGCR (**Figura 5B**). El acoplamiento de Mono-AP1 y Mono-AP3 en FPPS revelaba el principal papel del dominio de fenilo de estos compuestos para la interacción pi de cationes con el catión Mg<sup>2+</sup> de FPPS. La sustitución apropiada como grupo donante de electrones (Me, OMe o NH<sub>2</sub>) puede reforzar la unión del dominio de fenilo de Mono-AP3 a catión Mg<sup>2+</sup>. Mono-AP1 mostraba más afinidad para FT que Mono-AP2 y Mono-AP3, debido a la presencia de enlaces de hidrógeno con los aminoácidos Y861B y S599B. Finalmente, los experimentos bioquímicos confirmaban la inhibición directa tanto de FPPS como de FT pero no HMGCR por Mono-APs, con una disminución de 20% de actividades de FT y 40% para FPPS (**Figura 4A, 4B y 4C, Figura 7A, 7B y 7C**).

40 Las interacciones de Mono-APs (Mono-AP1 y Mono-AP2) con FPPS se confirmaron mediante experimentos de resonancia plasmónica superficial (SPR). Según esto, FPPS se inmovilizó sobre un chip CM5 y su interacción con Mono-APs se midió con una plataforma Biacore. Los resultados de estos experimentos confirmaban las interacciones directas de Mono-AP1 y Mono-AP2 con FPPS, y las constantes de disociación (Kd) y asociación (Ka) en equilibrio se podían calcular para ambas interacciones (véase la Tabla A posterior).

45 Tabla A

		Mono-AP1	Mono-AP2
FPPS	Kd (M)	2,4*10 <sup>-5</sup>	2*10 <sup>-4</sup>
	Ka (1/M)	9,5/10 <sup>3</sup>	5,04*10 <sup>3</sup>

50 La validación de los resultados de acoplamiento molecular y SPR se realizó al medir las actividades bioquímicas de las tres enzimas FT, FPPS y HMGCR en presencia de Mono-APs. Los resultados de las pruebas bioquímicas confirmaban la inhibición directa tanto de FPPS como de FT pero no HMGCR mediante Mono-APs, con una disminución de 20% a 30% de las actividades de FT y una disminución de 40% a 50% para las actividades de FPPS.

55 Finalmente, los experimentos de respuesta a la dosis permitían determinar los valores de IC50 de Mono-AP1, 2 y 3 sobre las actividades enzimáticas de FT y FPPS que varían de 0,35 a 9,32  $\mu$ M (véase la Tabla B posterior).

55 Los valores de IC50 corresponden a la concentración del compuesto de aminopirimidina probado que induce 50% del efecto inhibidor máximo medido para dicho compuesto de aminopirimidina.

Tabla B

IC50 ( μM)	Mono-AP1	Mono-AP2	Mono-AP3
FPPS	1,55	1,82	5,54
FT	3,46	9,32	0,35
HMGCR	Sin inhibición	Sin inhibición	Sin inhibición

- 5 El principal resultado del presente ejemplo es el descubrimiento de una nueva familia de inhibidores de la farnesilación capaces de librarse de fenotipos patológicos asociados con HGPS (Figura 6). Más allá de su uso potencial para el tratamiento de HGPS, este resultado subraya un nuevo tipo de moléculas para trastornos ya tratados con inhibidores de la farnesilación. También subraya el potencial único de derivados de células iPS para el descubrimiento de fármacos.
- 10 10 La persistencia de un motivo farnesilado anormal en el extremo C terminal de prelamina A mal procesada es el principal mecanismo molecular que conduce a toxicidad de progerina en HGPS (Cau y cols., 2014, *Semin Cell Dev Biol.*). Después de este descubrimiento, varios equipos han demostrado el interés de varios inhibidores de la prenilación conocidos al diseñar estudios preclínicos y clínicos independientes con FTIs y una combinación de un bisfosfonato y una estatina (Gordon y cols., 2012, *Proc Natl Acad Sci USA* VOL. 109: 16666-16671; Varela y cols., 2008, *Nat Med* VOL. 14: 767-772). Los resultados de los exámenes clínicos basados en FTI revelaban algunas mejoras limitadas en pacientes pero, no obstante, subrayaban la necesidad de nuevas moléculas que fueran más eficaces y menos tóxicas (Gordon y cols., 2012, *Proc Natl Acad Sci USA* VOL. 109: 16666-16671). El presente estudio se basaba en la suposición de que era posible identificar estos compuestos sin elegir como diana una enzima específica sino en cambio todo el proceso de prenilación de prelamina A.
- 15 20 De forma interesante, entre todos los aciertos que provienen del cribado de 21.608 moléculas pequeñas, resulta como un control interno que tres – una estatina y dos quinolinas – ya se habían identificado en otros estudios como moduladores de la farnesilación de prelamina A farnesilación (Varela y cols., 2008, *Nat Med* VOL. 14: 767-772; Yang y cols., 2005, *Proc Natl Acad Sci USA* VOL. 102: 10291-10296.). De hecho, QCs se habían descrito originalmente como inhibidores de la farnesilación de RAS, y su uso terapéutico se sugería sí como agentes antiproliferativos en el cáncer (Jasinski y cols., 2008, *Invest New Drugs* VOL. 26: 223-232.). QCs también se han evaluado en pacientes con malaria por su capacidad para inhibir farnesil transferasa en plasmodium falciparum (Eastman y cols., 2006, *Journal of lipid research* VOL. 47: 233-240; Gupta y Prabhakar, 2008, *Eur J Med Chem* VOL. 43: 2751-2767; Nallan y cols., 2005, *J Med Chem* VOL. 48, 3704-3713; Van Voorhis y cols., 2007, *Antimicrobial agents and chemotherapy* 51, 3659-3671) y, más tarde, para mantener su capacidad para interferir con la farnesilación, se evaluaban para mejorar las anormalidades de conformación en fibroblastos de pacientes con HGPS (Capell y cols., 2005, *Proc Natl Acad Sci USA* Vol. 102, 12879-12884). Además, las estatinas, que ya se han prescrito ampliamente en seres humanos como inhibidores de HMGCR para reducir los niveles de colesterol y prevenir trastornos cardiovasculares (Goldstein y Brown, 1990, *Nature* VOL. 343: 425-430), también se describieron como tratamientos potenciales para HGPS (Varela y cols., 2008, *Nat Med* VOL. 14, 767-772).
- 25 30 35 El resultado más llamativo del presente cribado de alto rendimiento era el hecho de que los 5 compuestos identificados compartían una estructura química común, un grupo aminopirimidina. El análisis posterior de un grupo de 47 compuestos químicos relacionados reforzaba este resultado al añadir otros 9 compuestos a la lista inicial. Aunque probablemente haya diferentes dianas y modos de acción para las aminopirimidinas descritas en la bibliografía, es interesante apuntar que otros estudios recientes han destacado el potencial terapéutico de esa familia de compuestos. A lo largo de los últimos 10 años, se han descrito aminopirimidinas como inhibidores muy potentes de B-Raf (Matiu y cols., 2012, *J Med Chem* VOL. 55:2869-2881), JAK (Tyner y cols., 2010, *Blood* VOL. 115, 5232-5240), inhibidores de CDK1/2 (Ryu y cols., 2011, *Bioorg Med Chem Lett* VOL. 21: 7185-7188) o EGFR y ErbB-2 (Xu y cols., 2008, *Bioorg Med Chem Lett* VOL. 18: 4615-4619.). También se describió que una aminopirimidina, el nilotinib, inhibe inhibidores de Bcr-Abl tirosina-cinasa (TKI), la diana terapéutica de primera línea para la mayoría de los pacientes con leucemia mielocítica crónica (Verstovsek y cols., 2005, *Cancer* VOL. 104: 1230-1236).
- 40 45 50 55 Los estudios de acoplamiento han sugerido que los análogos de pirimidinas se pueden unir a geranil transferasa, sugiriendo una implicación en la regulación de la prenilación de proteínas (Etiraj y cols., 2013, *Chem Biol Drug Des* VOL. 82: 732-742). También se ha mostrado que la adición de bisfosfonatos a un grupo pirimidina, la tienopirimidina, incrementa su unión al subbolsillo alífico de farnesil pirofósfato sintasa (Leung y cols., 2013, *J Med Chem* VOL. 56: 7939-7950). Los presentes resultados describían aminopirimidinas como inhibidores de la prenilación de proteínas, revelando su capacidad para regular este proceso en ausencia de bisfosfonatos. Los resultados de acoplamiento se mantenían, ya que mostraban que las Mono-APs presentaban una fuerte afinidad para los sitios activos de FPPS y FT dando como resultado experimentos bioquímicos para una disminución de las actividades de FT y FPPS, respectivamente, de 20% y 40%.

Desde el descubrimiento del mecanismo de prenilación de proteínas en hongos en 1978 (Kamiya y cols., 1978, Biochem Biophys Res Commun VOL. 83: 1077-1083), se ha confirmado experimentalmente que más de 100 proteínas sufren prenilación, entre las cuales notablemente las GTPAsas pequeñas Rho, Ras, Rac y Cdc24 (Lane y Beese, 2006, Journal of lipid research VOL. 47: 681-699). Debido a que estas GTPAsas pequeñas son esenciales en muchos episodios celulares, p. ej. transducción de señales intracelulares, proliferación, inflamación y movilidad, se ha realizado una gran cantidad de esfuerzos para identificar compuestos que inhiben la prenilación con una perspectiva terapéutica. Las primeras sugerencias para el uso terapéutico de inhibidores de la farnesilación como fármacos anticancerosos se realizaron en 1982 con la identificación de la familia multigénica RAS como oncogenes humanos, y la posterior demostración de que requerían farnesilación para expresar su actividad transformadora maligna (Bos, 1989, Proc Natl Acad Sci USA VOL. 102: 12879-12884.). Los estudios experimentales parecían ajustarse al potencial terapéutico de los inhibidores de farnesil transferasa ya que, dependiendo del contexto, inducen la apoptosis, la interrupción del ciclo celular o inhiben la proliferación celular, la migración celular y la angiogénesis (Berndt y cols., 2011, Nat Rev Cancer VOL. 11: 775-791). Según esto, desde 2000, se han efectuado al menos 75 exámenes clínicos en diversas indicaciones cancerosas, usando cuatro FTIs diferentes, a saber tipifarnib, lonafarnib, BMS-214662 y L-778123 (William y cols., 2012, Journal of medicinal chemistry 55, 169-196). Sin embargo, la mayoría de estos exámenes clínicos no han sido satisfactorios. Como un ejemplo, no se observó un incremento significativo de la esperanza de vida en pacientes con cánceres sólidos avanzados (Van Cutsem y cols., 2004, Journal of the American Society of Clinical Oncology 22, 1430-1438) o leucemia mieloide aguda (Chevallier y cols., 2009, Leuk Res VOL. 33: 1124-1126.). Como la mayoría de los fármacos exhibía un margen terapéutico muy estrecho, apareciendo toxicidad a dosis cercanas a las usadas en pacientes, una explicación para ese fallo podría ser una dosificación no óptima en pacientes. Para alcanzar el objetivo de una relación óptima de beneficio/riesgo, es alentador el hecho de que las Mono-APs eran tan eficaces como el tipifarnib en la farnesilación sin inducir toxicidad celular. Otra causa para el fallo puede haber sido la restricción de la actividad en farnesil transferasa, ya que puede haber una prenilación alternativa de N-Ras y K-Ras (es decir geranilgeranilación) en presencia de FTIs. Esto ha conducido al desarrollo de inhibidores de la prenilación globales que se describía que elegían como diana FPPS o HMGCR. Hasta ahora, los inhibidores de FPPS más comúnmente usados en el entorno clínico son análogos químicamente estables de pirofosfato inorgánico, todos los miembros de la clase de bisfosfonatos (Burr y Russell, 2011, Bone VOL. 49: 1). Estos compuestos se usan principalmente como un tratamiento para la osteoporosis debido a que inhiben la resorción ósea. Estos son dos grupos principales de compuestos que distinguen mecanismos moleculares. El primero comprende los bisfosfonatos no nitrogenados, tales como clodronato y etidronato que imitan al pirofosfato, e inhibe los osteoclastos, provocando finalmente su muerte, probablemente mediante interferencia con translocasas de ATP mitocondriales (Lehenkari y cols., 2002, Mol Pharmacol VOL. 61: 1255-1262.). El segundo grupo, los compuestos que contienen nitrógeno (N-BPs) tales como zoledronato, interfiere con reacciones metabólicas específicas a través de la inhibición de FPPS. Así, regulan una variedad de procesos celulares controlados por estas diana y son importantes para la función de los osteoclastos, incluyendo la morfología celular, la disposición citoesquelética, el arrugamiento de la membrana, el tráfico de vesículas y la apoptosis (Ridley y cols., 1992, Cell VOL. 70: 389-399) (Ridley y cols., 1992, Cell VOL. 70: 401-410). Más recientemente, se describió un nuevo tipo de inhibidores de FPPS, la N6-isopenteniladenosina, que muestra mejoras de las anormalidades de la conformación nuclear en fibroblastos progeroides (Bifulco y cols., 2013, The FEBS journal VOL. 280: 6223-6232). En este estudio, los presentes inventores demuestran que las Mono-APs se unen tanto a FPPS como a FT, añadiendo sin embargo otro modo de acción al elegir como diana la prenilación de proteínas en múltiples sitios. En consecuencia, y como para los inhibidores de la prenilación existentes, el potencial usado de Mono-APs en perspectivas terapéuticas necesitará verificarse para evitar efectos secundarios no deseables debido a la falta de especificidad sobre prelamina A.

Desde el descubrimiento de las células madre pluripotentes humanas, las células específicas de una enfermedad se han convertido en una herramienta principal para la validación y el descubrimiento de fármacos. Entre las ventajas muy conocidas de esas células en comparación con otros modelos celulares están su origen humano, su estado fisiológico o patológico no transformado y su capacidad de autorrenovación ilimitada y la posibilidad de derivar teóricamente cualquier fenotipo celular del organismo. En lo relativo al descubrimiento de fármacos a través de HTS, los derivados de células madre pluripotentes también ofrecen la posibilidad de ensayar rasgos fenotípicos en lugar de o además de dianas bioquímicas específicas. A lo largo de los 10 últimos años, varios estudios han hecho uso de esta capacidad. Los primeros cribados de fármacos sobre células madre pluripotentes se enfocaron a la identificación de compuestos que regularían el mantenimiento de células madre (Andrews y cols., 2010, Nat Rev Cancer VOL. 11: 775-791; Desbordes y cols., 2008, Cell Stem Cell VOL. 2: 602-612) o la diferenciación celular (Zhu y cols., 2009, Cell Stem Cell VOL. 4: 416-426) (Shan y cols., 2013, Nat Chem Biol VOL. 9: 514-520). Más recientemente, han aparecido diferentes cribados de fármacos fenotípicos, a los que el presente estudio está añadiendo un ejemplo más satisfactorio, que se dirigía a descubrir caminos terapéuticos potenciales para enfermedades específicas, tales como hipertrofia cardíaca (Carlson y cols., 2013, J Biomol Screen VOL. 18: 1203-1211) y disautonomía familiar, para la que KF-86466 se identificó como un tratamiento potencial (Lee y cols., 2012, Nat Biotechnol VOL. 30: 1244-1248.). Además de todas esas ventajas que ya las hacen únicas, es interesante subrayar el hecho de que esas células son susceptibles de pruebas funcionales. Como este es el caso en el presente artículo, ensayos secundarios pueden así complementar y proporcionar una validación fisiológica de un ensayo de cribado de fármacos primario por otra parte más reducciónista. Aquí, esto ha proporcionado a los presentes inventores la capacidad para contrarribar inmediatamente todos los posibles compuestos acertados sobre

rasgos fenotípicos asociados con HGPS. Sobre esa base, era posible priorizar los compuestos y seleccionar los más prometedores para realizar un estudio de la relación estructura/actividad, de un modo económico y rápido.

- Por lo tanto, el resultado de las pruebas llevadas a cabo sobre los compuestos divulgados en la presente invención muestra que dichos compuestos pueden ser útiles para tratar y/o prevenir enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, según se define anteriormente. Entre todos, dichas enfermedades o trastornos pueden incluir síndrome progérico de Hutchinson-Gilford (HPGS), progeria, una enfermedad neurodegenerativa, enfermedad de Parkinson, enfermedad de los cuerpos de Lewy difusa, atrofia sistémica múltiple, síndrome de Shy-Drager, degeneración estriatonigral, atrofia olivopontocerebelar, neurodegeneración asociada a pantotenato cinasa, deterioro cognitivo, demencia, una enfermedad del almacenamiento lisosómico, enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo II, mucopolisacaridosis, mucolipidosis II, mucolipidosis III, mucosulfatidosis, deficiencia de proteína activadora de GM2 variante AB, enfermedad de Danon, enfermedad de Salla, enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Schindler, enfermedad de Kanzaki, alfa-manosidosis, beta-manosidosis, fucosidosis, sialidosis, aspartilglucosaminuria, síndrome glucoproteínico deficiente en carbohidratos, enfermedad de Wolman, enfermedad de Farber, enfermedad de Niemann-Pick tipos A, B y C, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Krabbe, enfermedad de Fabry, múltiple deficiencia de sulfatasa, gangliosidosis GM1, gangliosidosis GM2, gangliosidosis GM3, galactosialidosis, cistinosis, enfermedad del almacenamiento de ácido siálico, picnodisostosis, leucodistrofia metacromática, galactosialidosis, lipofuscinosis neuronal ceroidea, lactosilceramidosis, enfermedad de Pompe, deficiencia de cobalamina tipo F, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer; una enfermedad mitocondrial, una enfermedad ocular, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad cardiovascular, una enfermedad proliferativa, depresión, ansiedad, una enfermedad inmunitaria, una enfermedad neoplásica, un tumor, un cáncer, una metástasis, una leucemia, un carcinoma, un melanoma, un sarcoma, un glioblastoma, un mieloma múltiple, un adenoma, una neoplasia, un neuroblastoma, un adenocarcinoma, un linfoma, un mieloma, un mieloma múltiple, un síndrome mielodisplásico, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia mielomonocítica crónica, metaplasia mieloide angiogénica, un mesotelioma, un glioma, aterosclerosis, cálculos biliares, colelitiasis, lipocalcinogranulomatosis, hipercolesterolemia, hiperlipoproteinemia, embolia por cristales de colesterol, infección del miocardio, infarto cerebral, angina de pecho, osteoporosis, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedad de Paget, neurofibromatosis tipo 1, síndrome de Leopard, síndrome de Noonan, síndrome de Legius, síndrome de Costello, fibromatosis gingival hereditaria tipo 1, síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, malformación capilar-malformación arteriovenosa, envejecimiento cutáneo, envejecimiento hormonal, envejecimiento cutáneo prematuro fotoinducido, miolipoenvejecimiento cutáneo, dermopatía restrictiva, alteración o pérdida del cabello, alopecia, infección por el virus de la hepatitis delta e infección viral.
- Más particularmente, los tumores y cánceres se seleccionan de cánceres y tumores de huesos, cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, colorrectales, vejiga urinaria, mama, estómago, ovarios, colon, recto, próstata, páncreas, pulmonares, pulmonares no microcíticos, pulmonares microcíticos, vagina, tiroides, cabeza y cuello.
- Por lo tanto, los compuestos reivindicados de la presente invención son útiles para tratar y/o prevenir enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas y que se puede seleccionar de una enfermedad progérica, una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad metabólica, una enfermedad mitocondrial, una enfermedad ocular, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad cardiovascular, una enfermedad proliferativa, una enfermedad inmunitaria, infarto cerebral, envejecimiento cutáneo, envejecimiento hormonal e infección viral.
- Una enfermedad progérica se puede elegir entre síndrome progérico de Hutchinson-Gilford, síndrome pseudoprogérico de Mulvihill-Smith y síndrome progeroide neonatal de Wiedemann Rautenstrauch.
- Por ejemplo, entre las enfermedades neurodegenerativas se pueden citar demencia, enfermedad de neuronas motrices, atrofias sistémicas que afectan principalmente al sistema nervioso central, enfermedad de Tay-Sachs, encefalopatías espongiformes transmisibles, ataxia telangiectasia, ataxia cerebelar dominante autosómica, síndrome de Baggio-Yoshinari, enfermedad de Batten, degeneración corticobasal, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, insomnio familiar letal, demencia frontotemporal y parkinsonismo ligado al cromosoma 17, neuropatía motriz y sensorial hereditaria con dominancia proximal, enfermedad de Refsum infantil, ataxia locomotriz, ataxia de Lyme, enfermedad de Macchado-Joseph, retardo mental y microcefalia con hipoplasia pontina y cerebelar, atrofia sistémica múltiple, neuroacantocitosis, enfermedad de Niemann-Pick, hipoplasia pontocerebelar, deficiencia de piruvato deshidrogenasa, agregación de proteínas, enfermedad de Refsum, enfermedad de Sandhoff, síndrome de Shy-Drager, ataxia espinocerebelar, degeneración combinada subaguda de la médula espinal, atrofia muscular espinal, panencefalitis esclerosante subaguda, tabes dorsal, encefalopatía tóxica, leucoencefalopatía tóxica, síndrome del erizo tambaleante, encefalitis, epilepsia, trastornos cerebrales genéticos, malformaciones de cabeza y cerebro, hidrocefalia, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica (ALS o enfermedad de Lou Gehrig), enfermedad de Huntington, enfermedades priónicas y enfermedad de Alzheimer.

A modo de ejemplos, entre una enfermedad metabólica se puede citar una enfermedad de almacenamiento lisosómico, obesidad, hipotiroidismo, hipertiroidismo, diabetes, hipolipidemia, galactosemia, fenilcetonuria y una enfermedad del almacenamiento de ácido siálico.

- 5 Entre las enfermedades del almacenamiento lisosómico se pueden citar gangliodosis, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad de Fabry, ceramidosis (lipograbulomatosis, enfermedad de Farber), sulfatidosis (leucodistrofia metacromática), mucosulfatidosis (múltiple deficiencia de sulfatasa, enfermedad de Austin), célula globoide, leucodistrofia (enfermedad de Krabbe), Hurler (mucopolisacaridosis (MPS) IH), enfermedad de Scheie (MPS IS o IV), Hunter (MPS II), Sanfilippo (MPS III), Morquio (MPS IV), Maroteaux-Lamy (MPS VI), Sly (MPS VII), glucogenosis tipo II o enfermedad del almacenamiento de glucógeno tipo II (también conocida como enfermedad de Pompe).

La enfermedad de almacenamiento de ácido siálico se puede seleccionar de enfermedad de almacenamiento del ácido siálico libre infantil (ISSD), enfermedad de Salla y enfermedad de Salla grave intermedia.

- 15 Como enfermedades mitocondriales se pueden citar enfermedad de Alpers, síndrome de Bart, cardiomiopatía infantil letal, defectos de betaoxidación, deficiencia de carnitina-acil-carnitina, deficiencia de carnitina, deficiencia de coenzima Q10, deficiencia de complejo I, deficiencia de complejo II, deficiencia de complejo III, deficiencia de complejo IV, deficiencia de complejo V, CPEO, deficiencia de CPT I, deficiencia de CPT II, KSS, acidosis láctica, LBSL-leucodistrofia, LCAD, LCHAD, enfermedad de Leigh, enfermedad de Luft, MAD / aciduria glutárica tipo II, MCAD, MELAS, MIRAS, citopatía mitocondrial, agotamiento de ADN mitocondrial, encefalopatía mitocondrial, miopatía mitocondrial, diabetes mellitus y sordera (DAD o DMDF), síndrome de Pearson, deficiencia de piruvato carboxilasa, deficiencia de piruvato deshidrogenasa, mutaciones de POLG, cadena respiratoria, neuropatía óptica hereditaria de Leber, ataxia, retinitis pigmentosa, ptosis, encefalopatía gastrointestinal mioneuropatía, epilepsia mioclónica con fibras rojas rasgadas (MERRF), SCAD, SCHAD y VLCAD.

- 20 Una enfermedad ocular se puede elegir entre ectropión, lagotalmos, blefarocalasis, ptosis, xantelasma del párpado, dermatitis del párpado, infestación parasitaria del párpado en la leishmaniosis, loiasis, oncocerciasis y en la ftiriasis, implicación en el párpado en una infección herpesviral, lepra, molusco contagioso, framibia, zóster, y en la tuberculosis, implicación del párpado en impétigo, dacrioadenitis, epifora, exoftalmia distiroidea, conjuntivitis, escleritis, queratitis, úlcera corneal, abrasión corneal, nifablepsia, fotoqueratitis, queratopatía punteada superficial de Thygeson, neovascularización corneal, distrofia de Fuch, queratoconjuntivitis seca, iritis, uveítis, cataratas, inflamación coriorretiniana, cicatrices coriorretinianas, degeneración coroidea, distrofia coroidea hereditaria, hemorragia y ruptura coroidea, desprendimiento coroideo, coriorretinitis, desprendimiento de retina, retinosquisis, 30 oclusión arterial retiniana, oclusión venosa retiniana, retinopatía, degeneración macular asociada a la edad, degeneración retiniana periférica, retinitis pigmentosa, hemorragia retiniana, separación de capas retinianas, edema macular, glaucoma, moscas flotantes, neuropatía óptica hereditaria de Leber, drusas del disco óptico, estrabismo, oftalmoparesis, esotropía, exotropía, hipermetropía, miopía, astigmatismo, anisometropía, presbicia, trastornos de la acomodación, amблиopía, amaurosis congénita de Leber, escotoma, daltonismo, nictalopía, ceguera, ojo rojo y pupila de Argill Robertson.

- 35 40 Por ejemplo, entre las enfermedades inflamatorias se pueden citar enfermedad de Alzheimer, espondilitis anquilosante, artritis (osteoartritis, artritis reumatoide (RA), artritis psoriásica), asma, aterosclerosis, enfermedad de Crohn, colitis, dermatitis, diverticulitis, fibromialgia, hepatitis, síndrome del intestino irritable (IBS), lupus eritematoso sistémico (SLE), nefritis, enfermedad de Parkinson, colitis ulcerativa.

- 45 50 A modo de ejemplos, entre las enfermedades cardiovasculares se pueden citar arteriopatías coronarias (CAD) tales como angina e infarto de miocardio (comúnmente conocido como ataque cardíaco), apoplejía, cardiopatía hipertensiva, cardiopatía reumática, cardiomiopatía, fibrilación auricular, cardiopatía congénita, endocarditis, aneurismas aórticos, arteriopatía periférica y trombosis venosa.

- 55 60 Las enfermedades proliferativas se pueden seleccionar de enfermedades neoplásicas, tumores, cánceres, metástasis.

- 65 70 Más particularmente, según se explica anteriormente, los tumores y los cánceres se pueden seleccionar de cánceres y tumores de huesos, cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, colorrectales, vejiga urinaria, mama, estómago, ovarios, colon, recto, próstata, páncreas, pulmonares, pulmonares no microcíticos, pulmonares microcíticos, vagina, tiroides, cabeza y cuello.

- 75 80 A modo de ejemplos, un cáncer se puede elegir entre una leucemia, un carcinoma, un melanoma, un sarcoma, un glioblastoma, un mieloma múltiple, un adenoma, una neoplasia, un neuroblastoma, un adenocarcinoma, un linfoma, un mieloma, un mieloma múltiple, un síndrome mielodisplásico, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia mielomonocítica crónica, metaplasia mieloide angiogénica, un mesotelioma y un glioma.

- 85 Una enfermedad inmunitaria se puede elegir entre encefalomielitis aguda diseminada (ADEM), leucoencefalitis hemorrágica necrotizante, enfermedad de Addison, agammaglobulinemia, alopecia areata, amiloidosis, espondilitis

- 5 anquilosante, nefritis anti-GBM/anti-TBM, síndrome antifosfolipídico (APS), angioedema autoinmunitario, anemia aplásica autoinmunitaria, disautonomía autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, hiperlipidemia autoinmunitaria, inmunodeficiencia autoinmunitaria, enfermedad del oído interno autoinmunitaria (AIED), miocarditis autoinmunitaria, ooforitis autoinmunitaria, pancreatitis autoinmunitaria, retinopatía autoinmunitaria, púrpura trombocitopénica autoinmunitaria (ATP), enfermedad tiroidea autoinmunitaria, urticaria autoinmunitaria, neuropatías axonal y neuronal, enfermedad de Balo, enfermedad de Behcet, penfigoide ampolloso, cardiomiotía, enfermedad de Castleman, enfermedad celíaca, enfermedad de Chagas, síndrome de fatiga crónica, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), ostomielitis multifocal recurrente (CRMO), síndrome de Churg-Strauss, penfigoide cicatricial/penfigoide mucoso benigno, enfermedad de Crohn, síndrome de Cogans, enfermedad por crioaglutininas, 10 bloqueo cardíaco congénito, miocarditis de Coxsackie, enfermedad de CREST, crioglobulinemia mixta esencial, neuropatías desmielinizantes, dermatitis herpetiforme, dermatomiositis, enfermedad de Devic (neuromielitis óptica), lupus discoide, síndrome de Dressler, endometriosis, esofagitis eosinofílica, fascitis eosinofílica, eritema nudoso, encefalomielitis alérgica experimental, síndrome de Evans, fibromialgia, alveolitis fibrosante, arteritis de células gigantes (arteritis temporal), miocarditis de células gigantes, glomerulonefritis, síndrome de Goodpasture, 15 granulomatosis con poliangeitis (GPA) (primeramente denominada granulomatosis de Wegener), enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barre, encefalitis de Hashimoto, tiroiditis de Hashimoto, anemia hemolítica, púrpura de Henoch-Schonlein, herpes gestacional, hipogammaglobulinemia, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), nefropatía por IgA, enfermedad esclerosante relacionada con IgG4, lipoproteínas inmunomoduladoras, miositis por cuerpos de inclusión, cistitis intersticial, artritis juvenil, diabetes juvenil (diabetes tipo 1), miositis juvenil, síndrome de 20 Kawasaki, síndrome de Lambert-Eaton, vasculitis leucocitoclástica, liquen plano, liquen escleroso, conjuntivitis lineal, enfermedad por IgA lineal (LAD), lupus (SLE), enfermedad de Lyme, enfermedad de Meniere crónica, poliangeitis microscópica, enfermedad mixta del tejido conectivo (MCTD), úlcera de Mooren, enfermedad de Mucha-Habermann, esclerosis múltiple, miastenia grave, miositis, narcolepsia, neuromielitis óptica (de Devic), neutropenia, penfigoide cicatricial ocular, neuritis óptica, reumatismo palindrómico, PANDAS (enfermedades neuropsiquiátricas 25 autoinmunitarias pediátricas asociadas con estreptococos), degeneración cerebelar paraneoplásica, hemoglobinuria nocturna paroxística (PNH), síndrome de Parry Romberg, síndrome de Parsonnage-Turner, pars planitis (uveítis periférica), pénfigo, neuropatía periférica, encefalomielitis perivenosa, anemia perniciosa, síndrome de POEMS, poliarteritis nudosa, síndromes poliglandulares autoinmunitarios tipo I, II y III, polimialgia reumática, polimiositis, síndrome posinfarto de miocardio, síndrome pospericardiotomía, dermatitis por progesterona, cirrosis biliar primaria, 30 colangitis esclerosante primaria, psoriasis, artritis psoriásica, fibrosis pulmonar idiopática, pioderma gangrenosa, aplasia pura de glóbulos rojos, fenómeno de Raynauds, artritis reactiva, distrofia simpática refleja, síndrome de Reiter, policondritis recidivante, síndrome de las piernas inquietas, fibrosis retroperitoneal, fiebre reumática, artritis reumatoide, sarcoidosis, síndrome de Schmidt, escleritis, escleroderma, síndrome de Sjogren, autoinmunidad espermática y testicular, síndrome de la persona rígida, endocarditis bacteriana subaguda (SBE), síndrome de 35 Susac, oftalmia simpática, arteritis de Takayasu, arteritis temporal/arteritis de células gigantes, púrpura trombocitopénica (TTP), síndrome de Tolosa-Hunt, mielitis transversal, diabetes tipo 1, colitis ulcerativa, enfermedad del tejido conectivo indiferenciada (UCTD), uveítis, vasculitis, dermatosis vesiculoampollosa, vitíligo y granulomatosis de Wegener (ahora denominada granulomatosis con poliangeitis (GPA)).
- 40 40 El envejecimiento cutáneo se puede seleccionar de envejecimiento cutáneo prematuro fotoinducido y miolipoenvejecimiento cutáneo.
- 45 Por ejemplo, entre las infecciones virales se pueden citar varicela, gripe (influenza), virus de la inmunodeficiencia humana (HIV/SIDA), papilomavirus humano (HPV), mononucleosis infecciosa, paperas, sarampión y rubeola, herpes zóster, gastroenteritis viral (gripe estomacal), hepatitis viral, meningitis viral, dengue, chikungunya, neumonía viral, gripe aviar; resfriado común, infección por citomegalovirus (CMV), infección por virus del Ébola, infección por virus de Marburgo, infección por hantavirus, infecciones por virus del herpes simple, mononucleosis infecciosa, fiebre de Lassa y fiebres hemorrágicas sudamericanas, síndrome respiratorio de oriente medio (MERS), poliomielitis, neuralgia posherpética, síndrome respiratorio agudo grave (SARS), viruela, gripe porcina H1N1 y fiebre amarilla.
- 50 50 Con este propósito, una cantidad eficaz de dicho compuesto se puede administrar a un paciente que sufra una enfermedad o un trastorno en el que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, y más precisamente una inhibición de la farnesilación de proteínas, y en particular de HGPS y progeria, y de las enfermedades previamente citadas.
- 55 La presente invención también se refiere al uso de al menos un compuesto elegido entre un compuesto de una cualquiera de las fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) según se definen anteriormente, y compuestos (1) a (14) según se definen anteriormente, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según la presente invención para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno en el que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, y más precisamente en el que se requiera una inhibición de la farnesilación de proteínas, y en particular HGPS y progeria, pero también las enfermedades listadas previamente.
- 60 60 La presente invención también abarca composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto elegido entre nuevos compuestos de fórmula (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) según se definen anteriormente y compuestos (1) a (14), según se definen anteriormente o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Así, estas composiciones farmacéuticas contienen una cantidad eficaz de dicho compuesto, y uno o más excipientes farmacéuticos.

5 Los susodichos excipientes se seleccionan según la forma de dosificación y el modo de administración deseado.

En este contexto, se pueden presentar en cualquier forma farmacéutica que sea adecuada para la administración enteral o parenteral, en asociación con excipientes apropiados, por ejemplo en la forma de comprimidos simples o revestidos, cápsulas de gelatina dura, de envuelta blanda y otras cápsulas, supositorios, o bebibles, tal como 10 suspensiones, jarabes, o soluciones o suspensiones inyectables, en dosis que permitan la administración diaria de 0,1 a 1000 mg de sustancia activa.

15 El presente texto se refiere además a un método de tratamiento de pacientes que sufren una enfermedad o un trastorno en el que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, y más precisamente en el que se requiera una inhibición de la farnesilación de proteínas, y en particular HGPS, progeria o una cualquiera de las enfermedades previamente listadas, que comprende al menos una etapa de administración a un paciente que la sufra de una cantidad eficaz de un compuesto de una cualquiera de las fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic) y (I'a) y (1) a (14) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Listado de secuencias

20 <110> Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale (INSERM)

<110> Association française contre les myopathies (AFM)

<110> Universite d'Evry Val d'Essonne

<120> Nuevos compuestos de aminopiridina útiles como inhibidores de la prenilación de proteínas

<130> PR73628

25 <150> EP14306578.7

<151> 2014-10-08

<160> 9

<170> BiSSAP 1.3

<210> 1

30 <211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> cebador de lamina A

35 <400> 1

tcttctgcct ccagtgtcac g 21

<210> 2

<211> 19

< 212> ADN  
< 213> Secuencia Artificial  
<220>  
< 223> cebador de lamina A  
5 <400> 2  
agtctgggg gctctgggt 19  
<210> 3  
< 211> 22  
< 212> ADN  
10 < 213> Secuencia Artificial  
<220>  
< 223> cebador de lamina C  
<400> 3  
caactccact ggggaagaag tg 22  
15 <210> 4  
< 211> 17  
< 212> ADN  
< 213> Secuencia Artificial  
<220>  
20 < 223> cebador de lamina C  
<400> 4  
cggcggtac cactcac 17  
<210> 5  
< 211> 17  
25 < 212> ADN  
< 213> Secuencia Artificial  
<220>  
< 223> Cebador de progerina

<400> 5

actgcagcag ctccgggg 17

<210> 6

< 211> 16

5 < 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> Cebador de progerina

<400> 6

10 tctggggct ctgggc 16

<210> 7

< 211> 14

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

15 <220>

< 223> sonda de lamina A

<400> 7

actcgagct accg 14

<210> 8

20 < 211> 15

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> sonda de lamina C

25 <400> 8

atgcgcaagc tggtg 15

<210> 9

< 211> 15

# ES 2 751 623 T3

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> Sonda de progerina

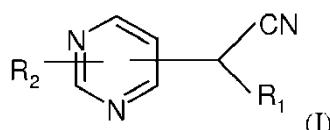
5 <400> 9

cgctgagtac aacct 15

## REIVINDICACIONES

5 1. Un compuesto o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos en los que se requiera una inhibición de la prenilación de proteínas, en donde las enfermedades o los trastornos se seleccionan de una enfermedad progérica, una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad metabólica; una enfermedad mitocondrial, una enfermedad ocular, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad cardiovascular, una enfermedad proliferativa, una enfermedad inmunitaria, infarto cerebral, envejecimiento cutáneo, envejecimiento hormonal e infección viral, que se elige alternativamente entre

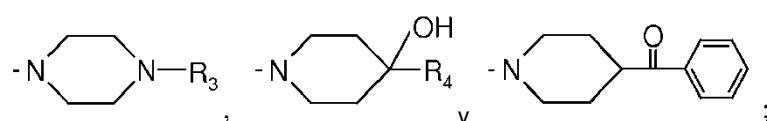
10 (1)



en donde

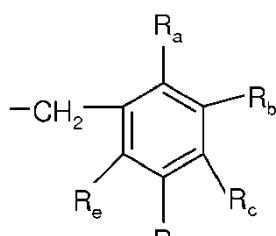
R1 es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

R2 representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



15 representando R3 un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,
- un grupo heteroarylcarbonilo,
- un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmethyl y



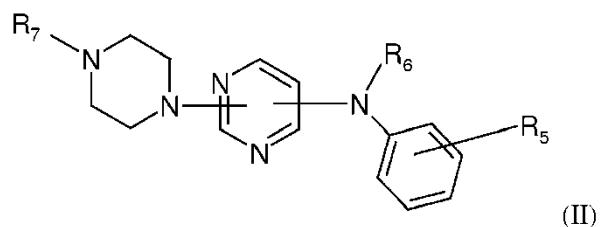
20 - un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno,

y siendo R<sub>4</sub> un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo;

con la condición de que

25 R<sub>3</sub> no sea un grupo 4-metilbencilo cuando R<sub>1</sub> sea 2-piridilo, y

(2)



en donde

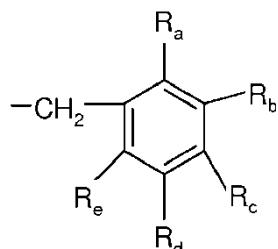
R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>);

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>); y

5 R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,
- un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y un grupo fenilo,
- un grupo heteroarilacetilo opcionalmente sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,
- un grupo alcoxi(C<sub>1-C4</sub>)-carbonilmethyl y

10



- un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1-C4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1-C4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno,

15

con la condición de que

R<sub>7</sub> no sea un grupo indol-3-ilacetilo cuando R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> sean ambos un grupo metilo,

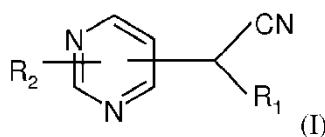
en donde:

20

- arilo significa un radical hidrocarbonado aromático monocíclico o bicíclico monovalente de 6 a 10 átomos de anillo, y
- heteroarilo se refiere a un radical aromático monocíclico o bicíclico monovalente de 5 to 10 átomos de anillo donde uno o más, preferiblemente uno, dos o tres, átomos de anillo son un heteroátomo seleccionado de N, O o S, siendo carbono los átomos de anillo restantes.

2. Un compuesto para el uso según la reivindicación 1, que se elige alternativamente entre

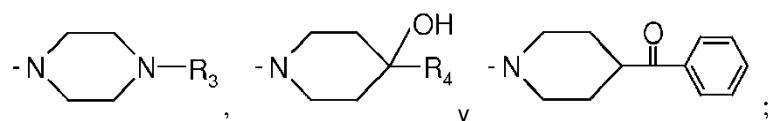
(1)



en donde

R<sub>1</sub> es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

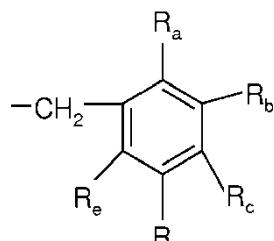
R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



5

representando R<sub>3</sub> un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,
- un grupo heteroarylcarbonilo,
- un grupo alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-carbonilmetilo y



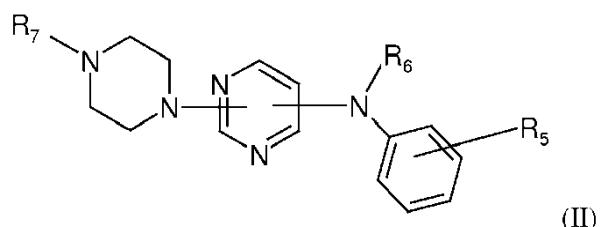
10

- un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y siendo R<sub>c</sub> un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno,

15

y siendo R<sub>4</sub> un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo; y

(2)



en donde

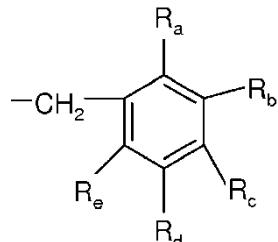
R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

20

R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); y

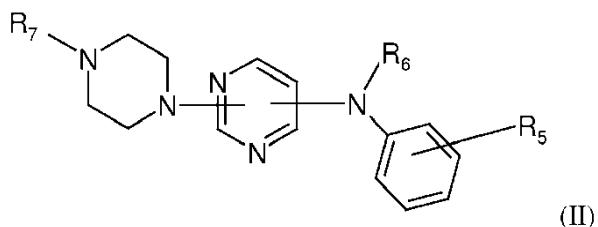
R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,
- un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y un grupo fenilo,
- un grupo heteroarilacetilo sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,
- 5 - un grupo alcoxi(C<sub>1-C4</sub>)-carbonilmethyl y



- un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1-C4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1-C4</sub>), formando juntos opcionalmente R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno.

10 3. Un compuesto para el uso según la reivindicación 1 o 2, que es de fórmula (II)



en donde

R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>);

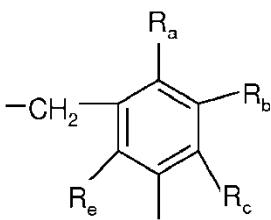
15 R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>); y

R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

- un grupo arilcarbonilo,
- un grupo heteroarilcarbonilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados de un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y un grupo fenilo,

20 - un grupo heteroarilacetilo sustituido en el anillo heteroarílico con un grupo fenilo,

- un grupo alcoxi(C<sub>1-C4</sub>)-carbonilmethyl y



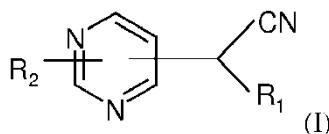
- un grupo , siendo R<sub>a</sub>, R<sub>c</sub> y R<sub>e</sub>, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo (C<sub>1-C4</sub>) o un grupo alcoxi (C<sub>1-C4</sub>), siendo R<sub>b</sub> y R<sub>d</sub> independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alcoxi (C<sub>1-C4</sub>), formando juntos opcionalmente

R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub>, o R<sub>b</sub> y R<sub>c</sub>, o R<sub>c</sub> y R<sub>d</sub>, o R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> con el átomo de carbono al que están ligados un anillo de 5 o 6 miembros condensado al anillo fenílico que comprende dos átomos de oxígeno.

4. Un compuesto para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que se elige alternativamente entre

(1)

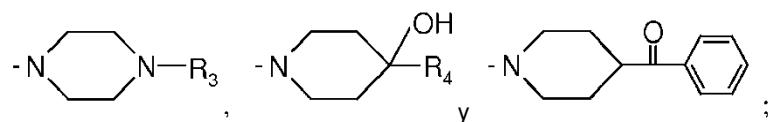
5



en donde

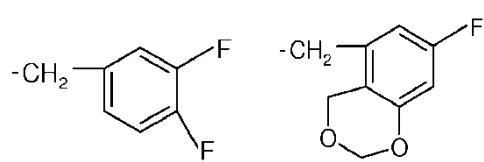
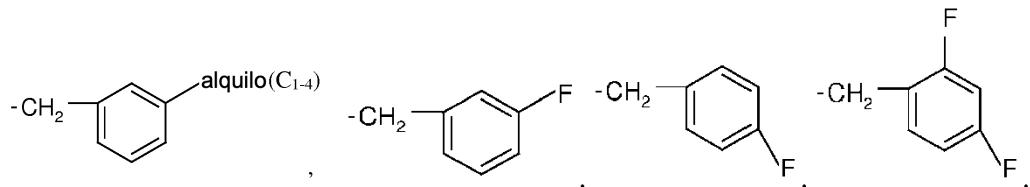
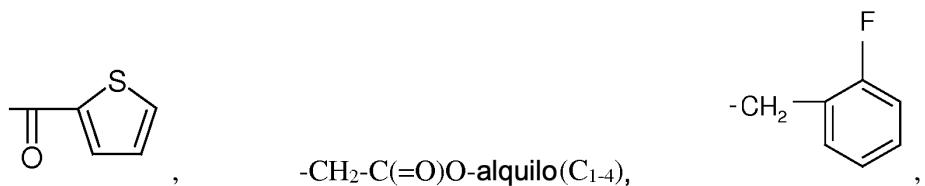
R<sub>1</sub> es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo;

R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



10

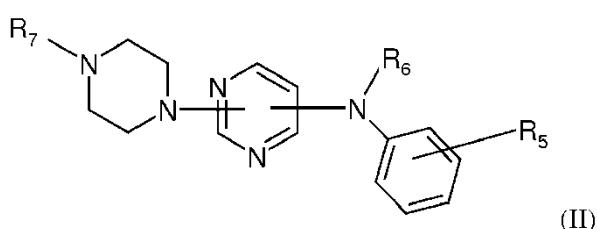
representando R<sub>3</sub> un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



15

y siendo R<sub>4</sub> un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo;

(2)

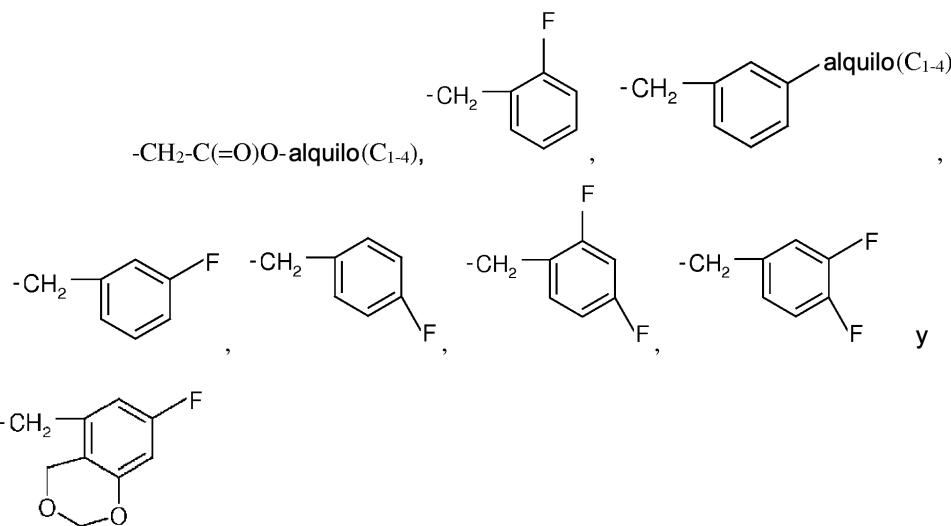
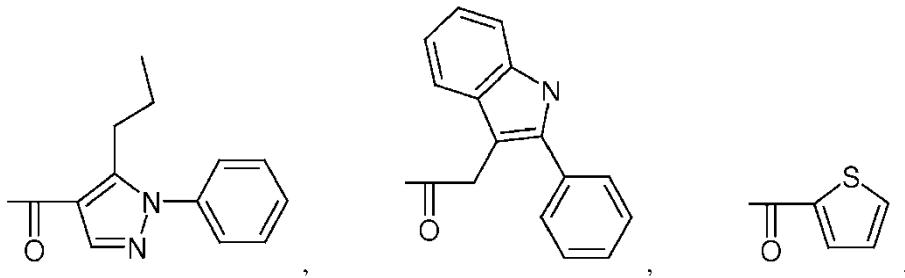


en donde

R<sub>5</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>);

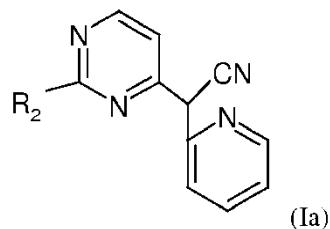
R<sub>6</sub> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>); y

R<sub>7</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

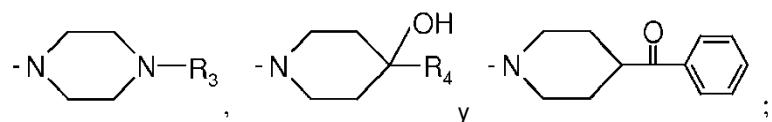


10 5. Un compuesto para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 4, que se elige alternativamente entre:

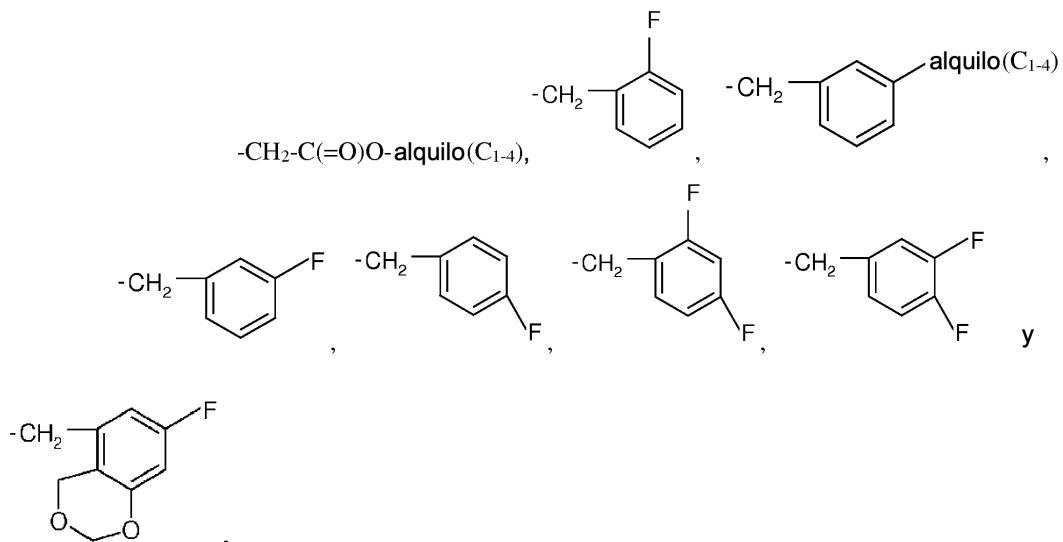
(1)



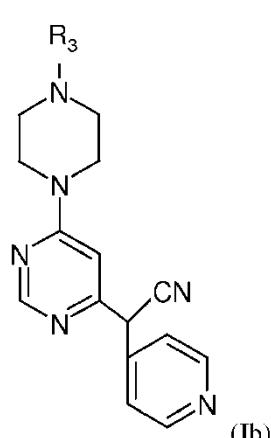
en donde R<sub>2</sub> representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



representando  $R_3$  un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:

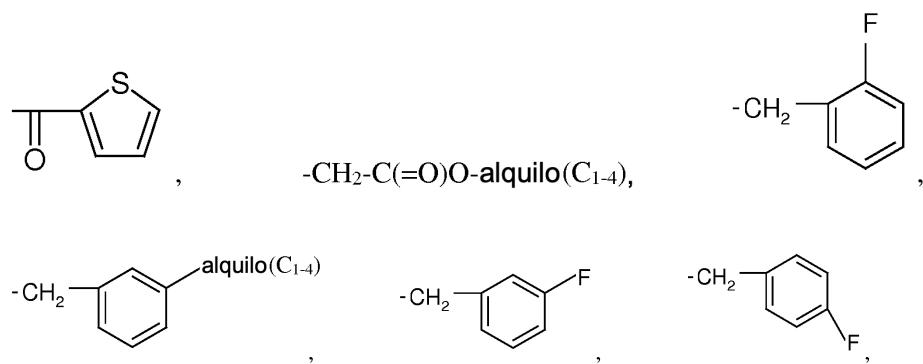


(2)

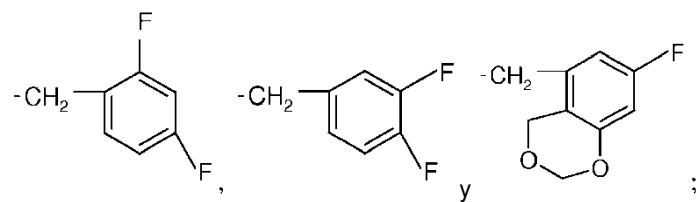


5

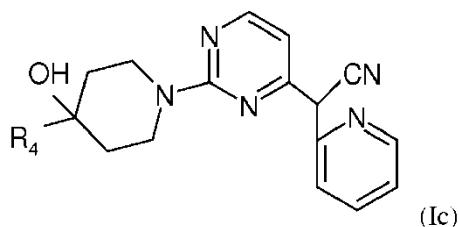
en donde  $R_3$  representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



10



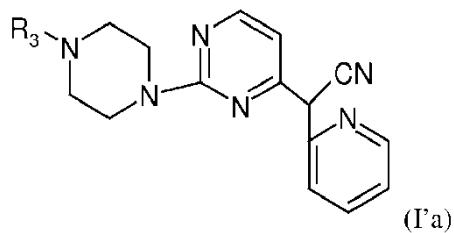
(3)



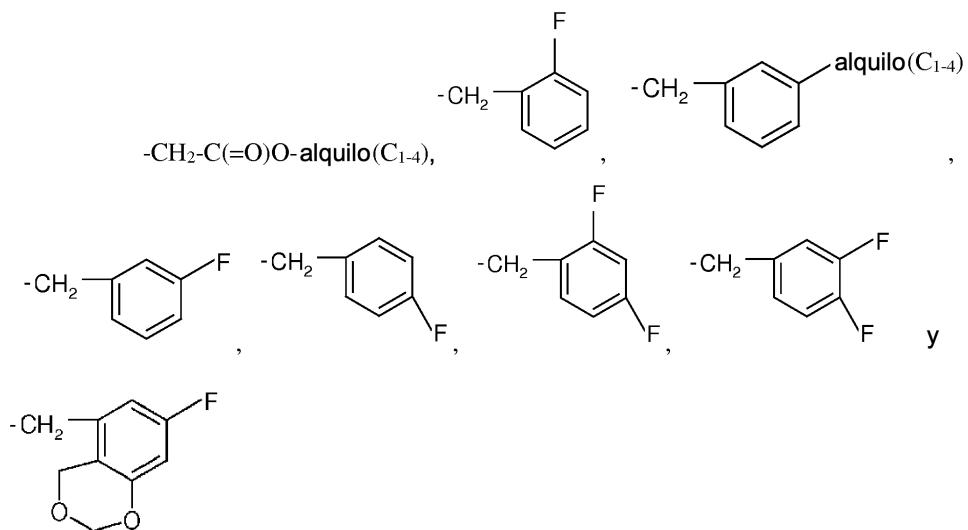
(Ic)

5 en donde  $R_4$  es un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, o un grupo bencilo.

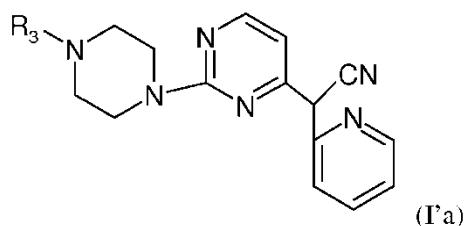
6. Un compuesto para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4 y 5, que es de fórmula (I'a):



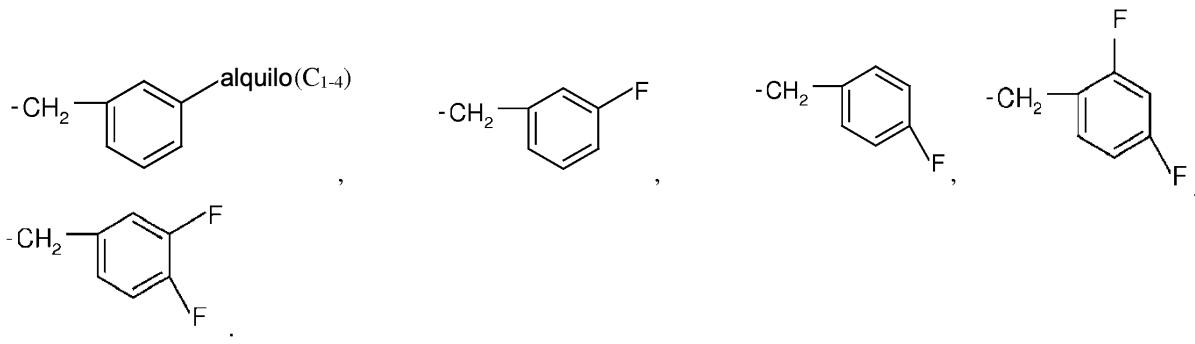
10 en donde  $R_3$  representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



15 7. Un compuesto para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4, 5 y 6, que es de fórmula (I'a):



en donde  $R_3$  representa un grupo que se selecciona del grupo que consiste en:



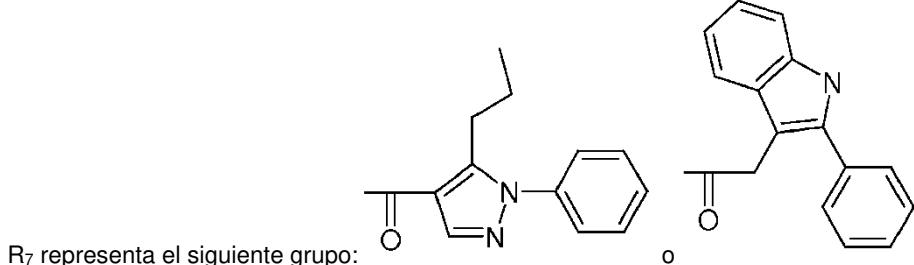
8. Un compuesto para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que es de fórmula (II)

10 en la que

$R_5$  representa un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y preferiblemente un grupo metilo;

$R_6$  representa un grupo alquilo (C<sub>1-4</sub>) y preferiblemente un grupo metilo; y

15



9. Un compuesto para el uso según la reivindicación 1, que se elige entre:

- (1) {2-[4-(2-fluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo
- 20 (2) {2-[4-(4-cloro-fenil)-4-hidroxi-piperidin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo
- (3) [2-(4-benzoil-piperidin-1-il)-pirimidin-4-il]-piridin-2-il-acetonitrilo
- (4) {2-[4-(3-metil-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo
- (5) {2-[4-(4-fluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo
- (6) éster etílico de ácido {4-[4-(ciano-piridin-2-il-metil)-pirimidin-2-il]-piperacin-1-il}-acético
- 25 (7) {2-[4-(2,4-difluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo
- (8) {2-[4-(6-fluoro-4H-benzo[1,3]dioxin-8-ilmetil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo
- (9) {2-[4-(3-fluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo

- (10) {2-[4-(3,4-difluoro-bencil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-piridin-2-il-acetonitrilo
- (11) piridin-4-il-{6-[4-(tiofeno-2-carbonil)-piperacin-1-il]-pirimidin-4-il}-acetonitrilo
- (12) [2-(4-bencil-4-hidroxi-piperidin-1-il)-pirimidin-4-il]-piridin-2-il-acetonitrilo
- (13) {4-[6-(metil-m-tolil-amino)-pirimidin-4-il]-piperacin-1-il}-(1-fenil-5-propil-1H-pirazol-4-il)-metanona, y

5 (14) 1-{4-[6-(metil-m-tolil-amino)-pirimidin-4-il]-piperacin-1-il} -2-(2-fenil-1H-indol-3-il)-etanona.

10 10. Un compuesto para el uso según la reivindicación 1, en el que las enfermedades proliferativas son tumores y cánceres que se seleccionan de cánceres y tumores de huesos, cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, colorrectales, vejiga urinaria, mama, estómago, ovarios, colon, recto, próstata, páncreas, pulmonares, pulmonares no microcíticos, pulmonares microcíticos, vagina, tiroides, cabeza y cuello.

15 11. Un compuesto elegido entre los compuestos de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic), (I'a) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica, para el uso como un medicamento.

20 15. 12. Un compuesto para el uso como un medicamento según la reivindicación 11, que se elige entre los compuestos (1) a (14) según se definen en la reivindicación 9, o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica.,.

25 20 13. Un compuesto elegido entre los compuestos de fórmulas (I), (II), (Ia), (Ib), (Ic), (I'a) según se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como hidrocloruro, hidrobromuro, tartrato, fumarato, citrato, trifluoroacetato, ascorbato, triflato, mesilato, tosilato, formiato, acetato y malato, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica.

30 25 14. Un compuesto según la reivindicación 13, que se elige entre los compuestos (1) a (14) según se definen en la reivindicación 9, o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como hidrocloruro, hidrobromuro, tartrato, fumarato, citrato, trifluoroacetato, ascorbato, triflato, mesilato, tosilato, formiato, acetato y malato, bajo la forma de enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo la mezcla racémica

30 15. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 13 o 14 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

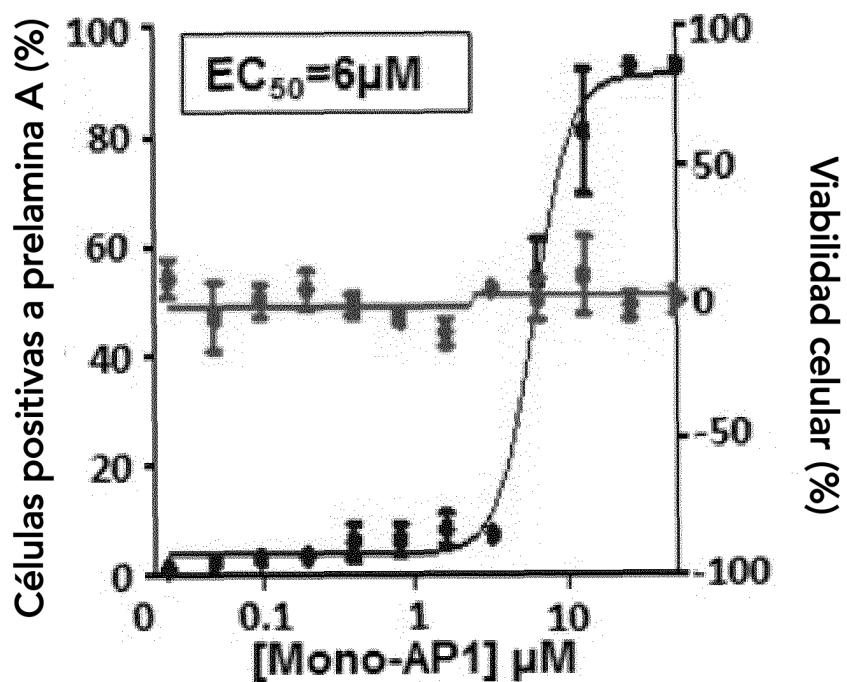


Figura 1 – Mono-AP1

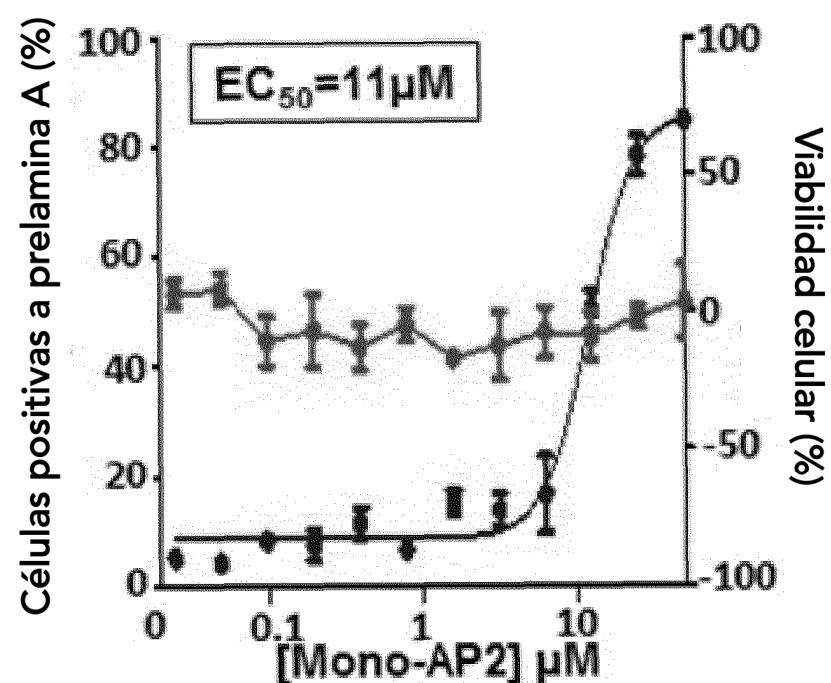


Figura 1 – Mono-AP2

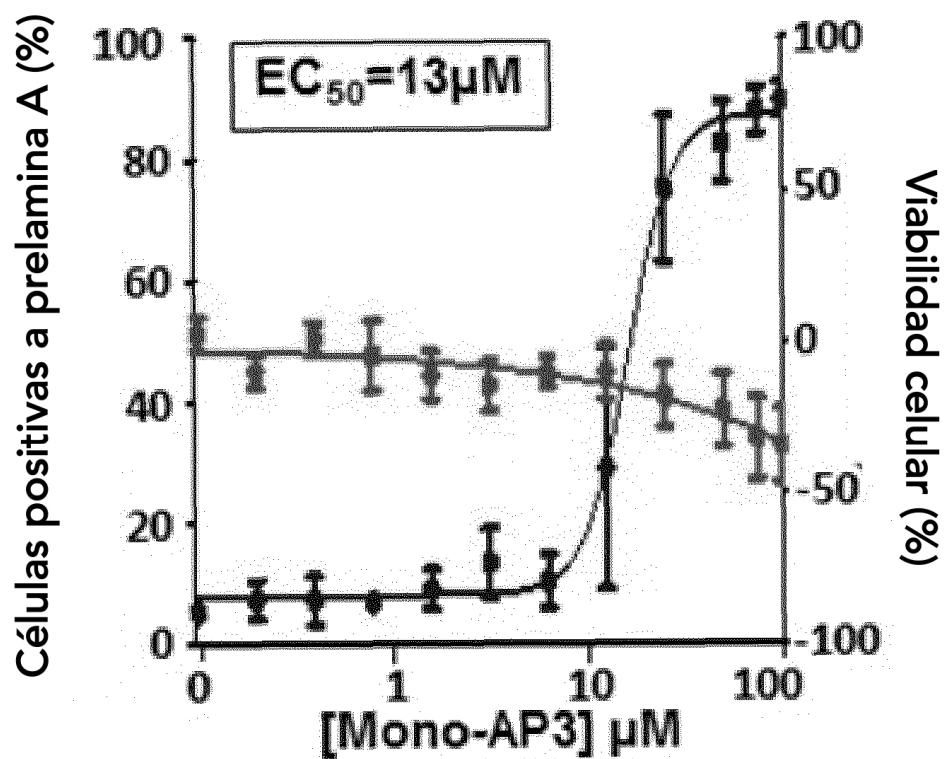


Figura 1 – Mono-AP3

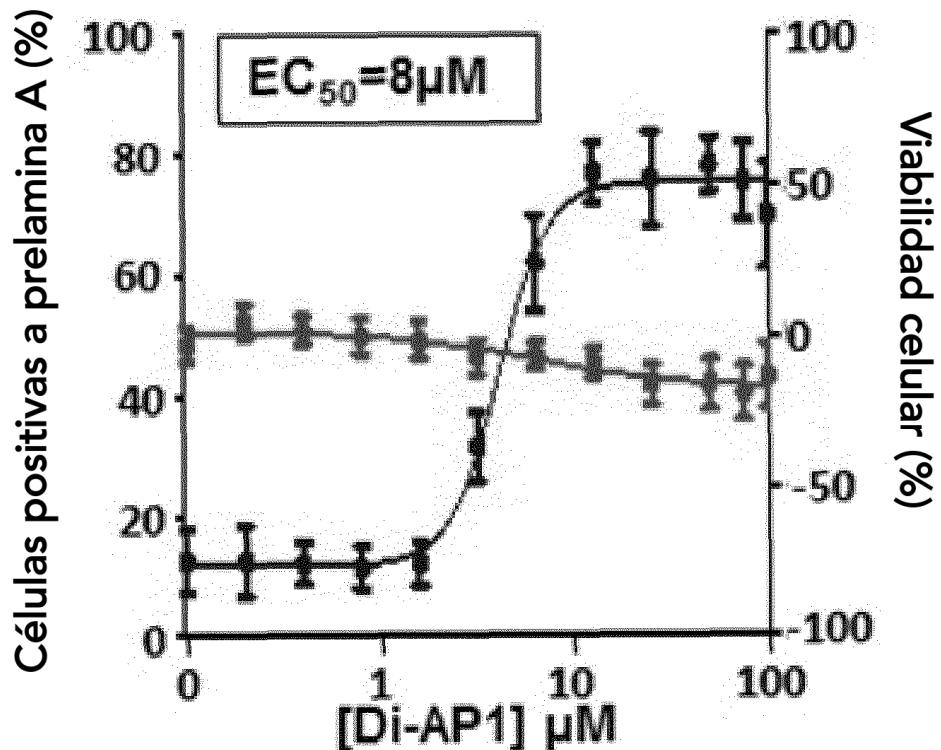


Figura 1 – Di-AP1

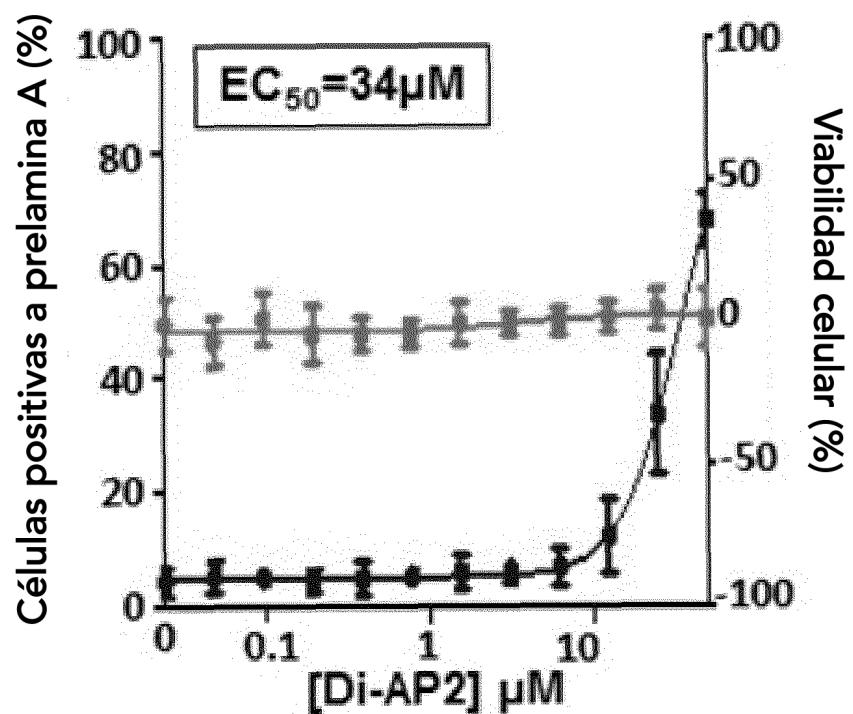


Figura 1 – Di-AP2

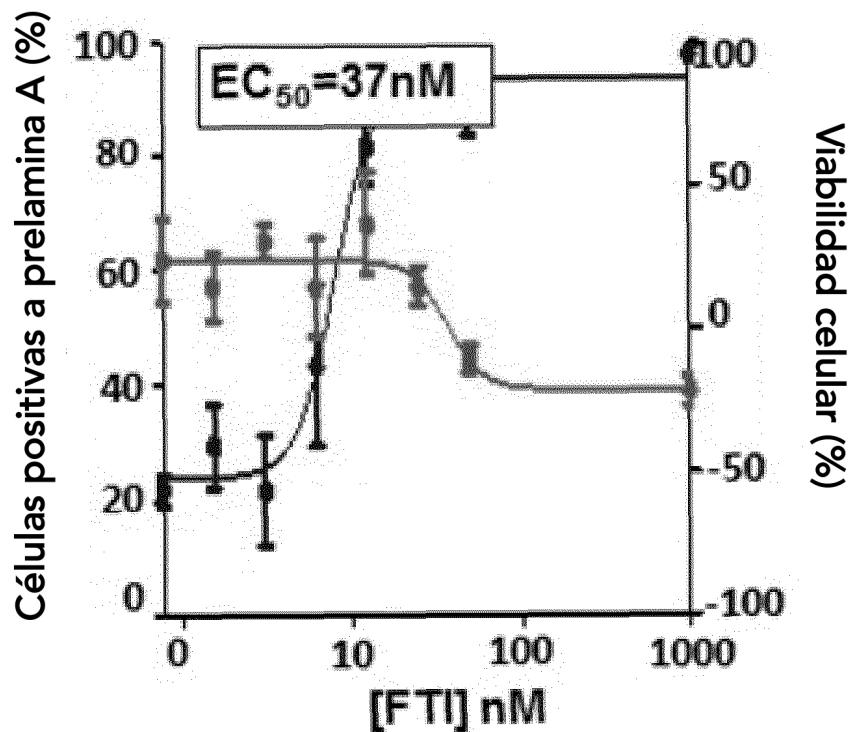


Figura 1 - FTI

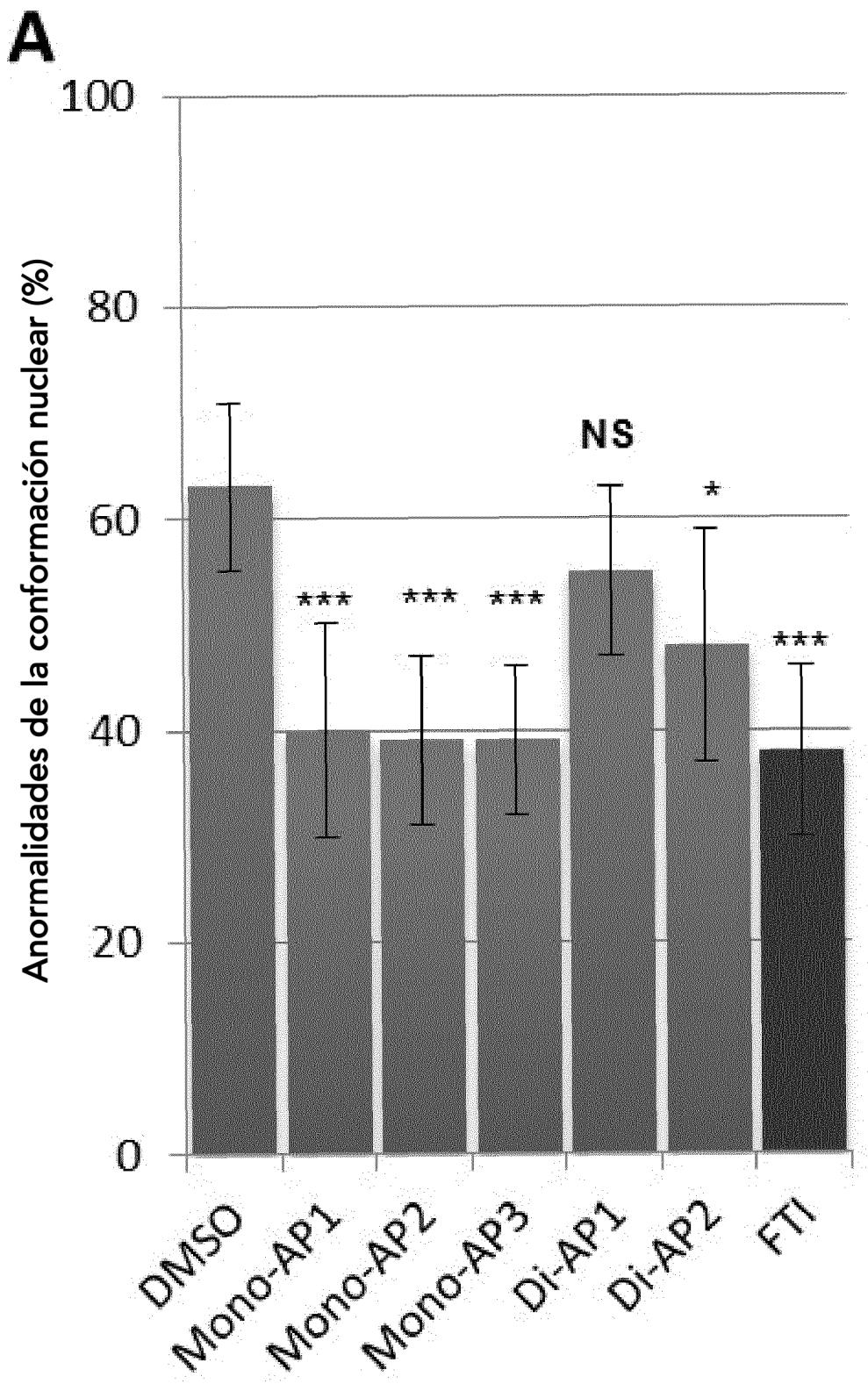


Figura 2A

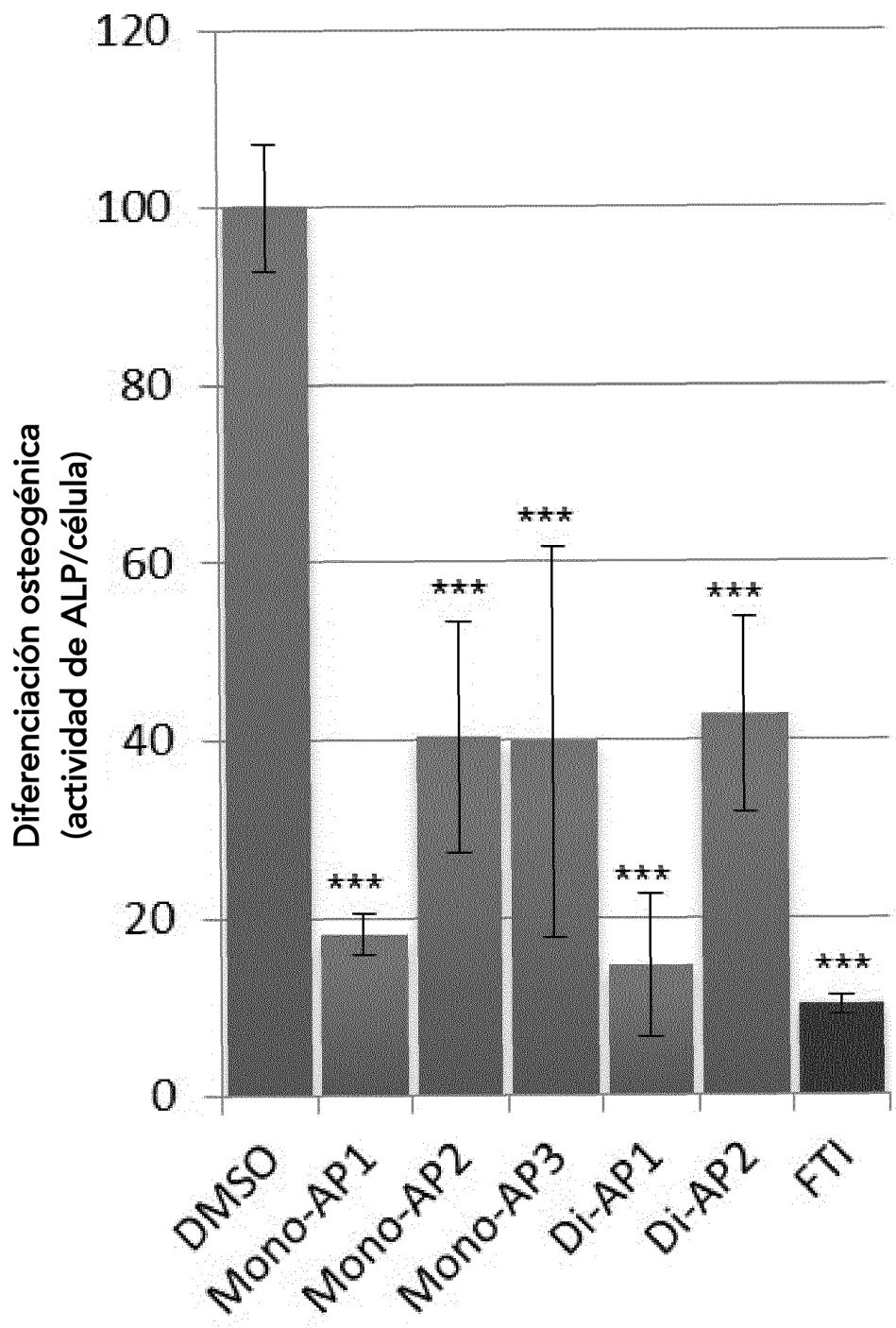


Figura 2B

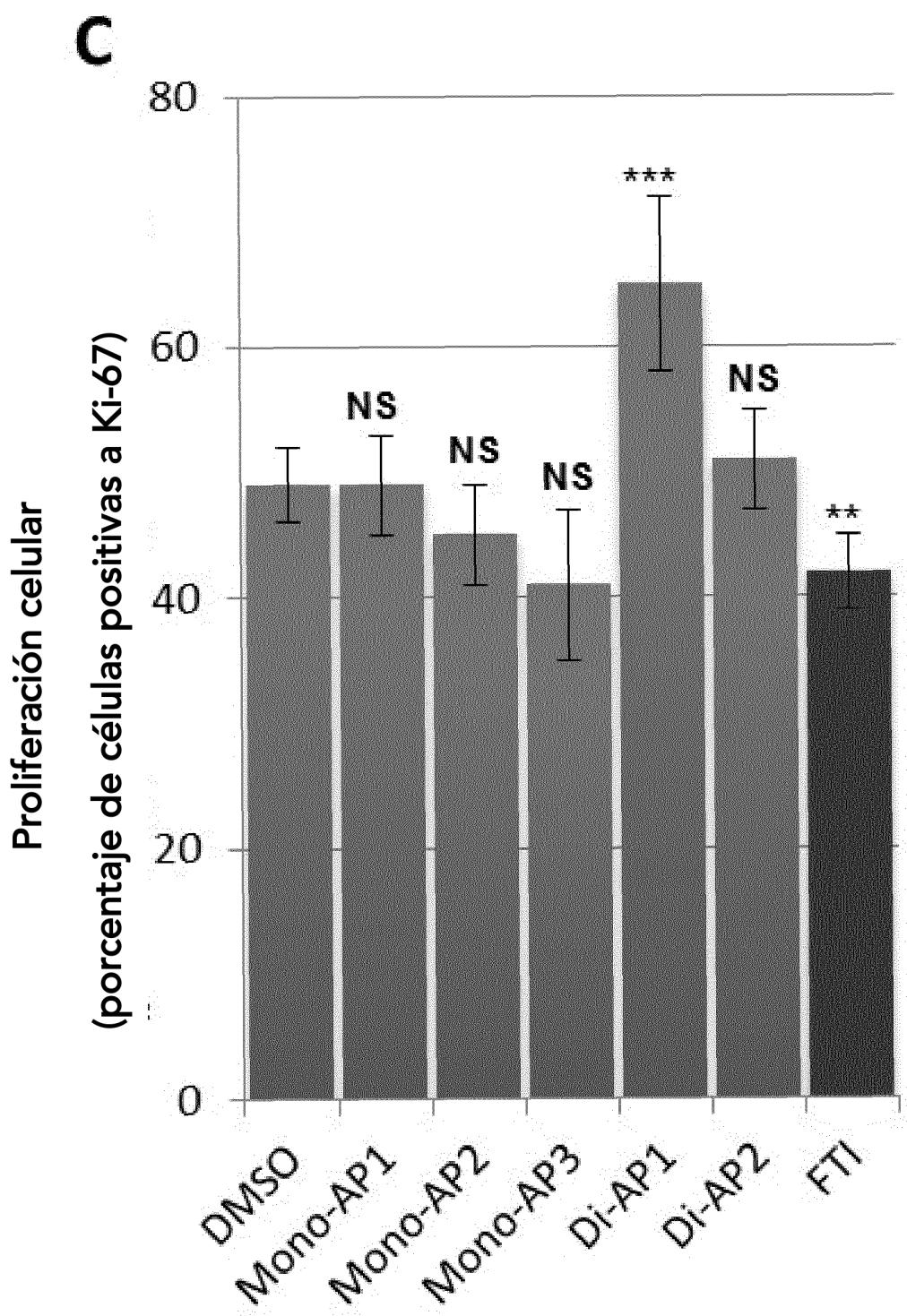


Figura 2C

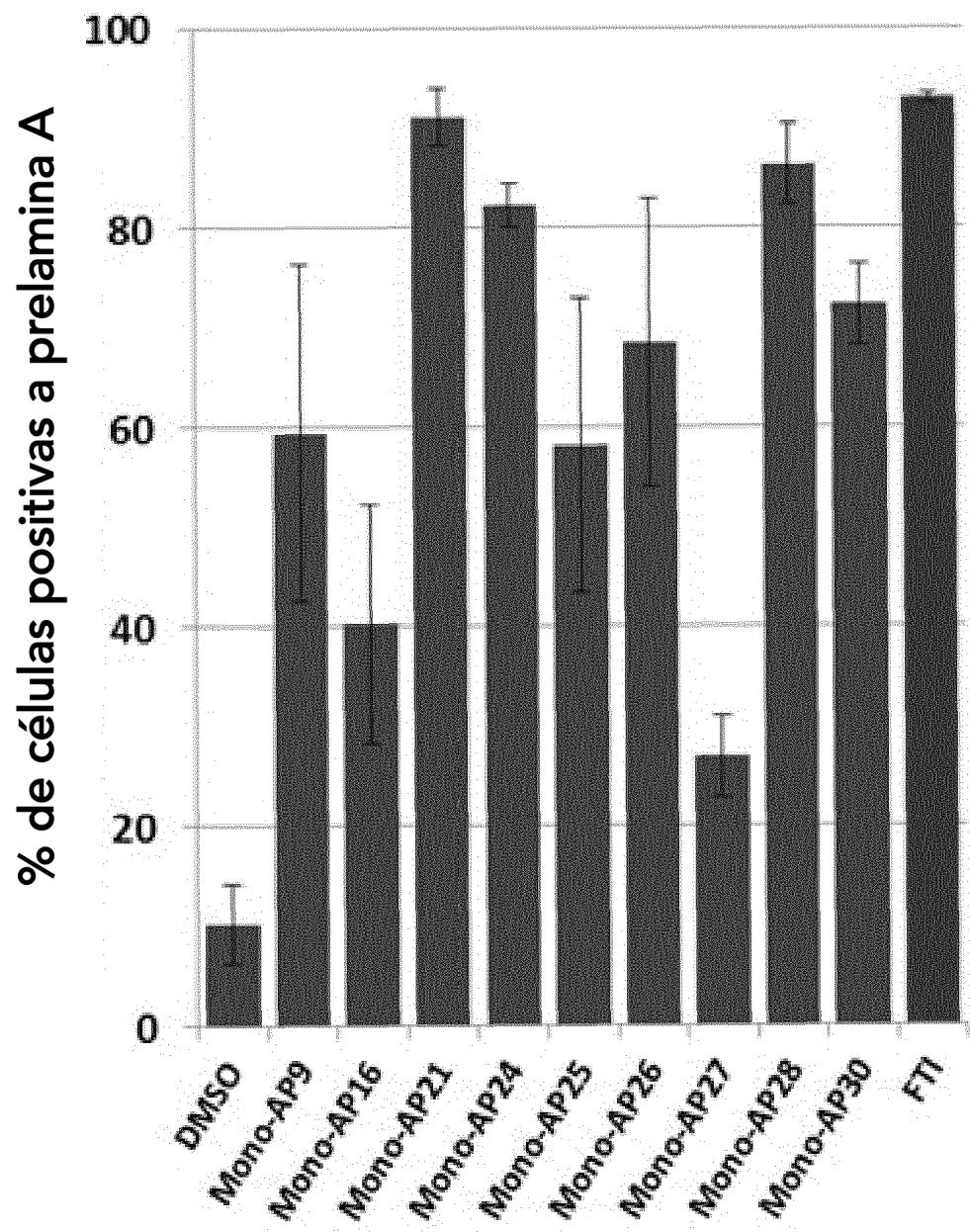
**A**

Figura 3A

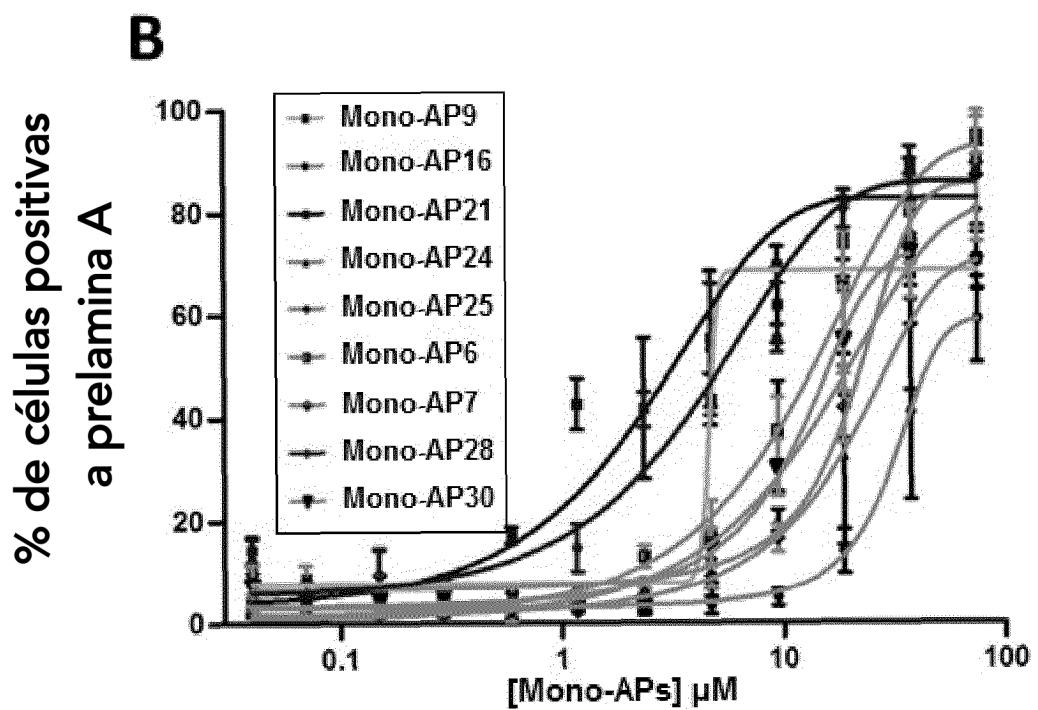


Figura 3B

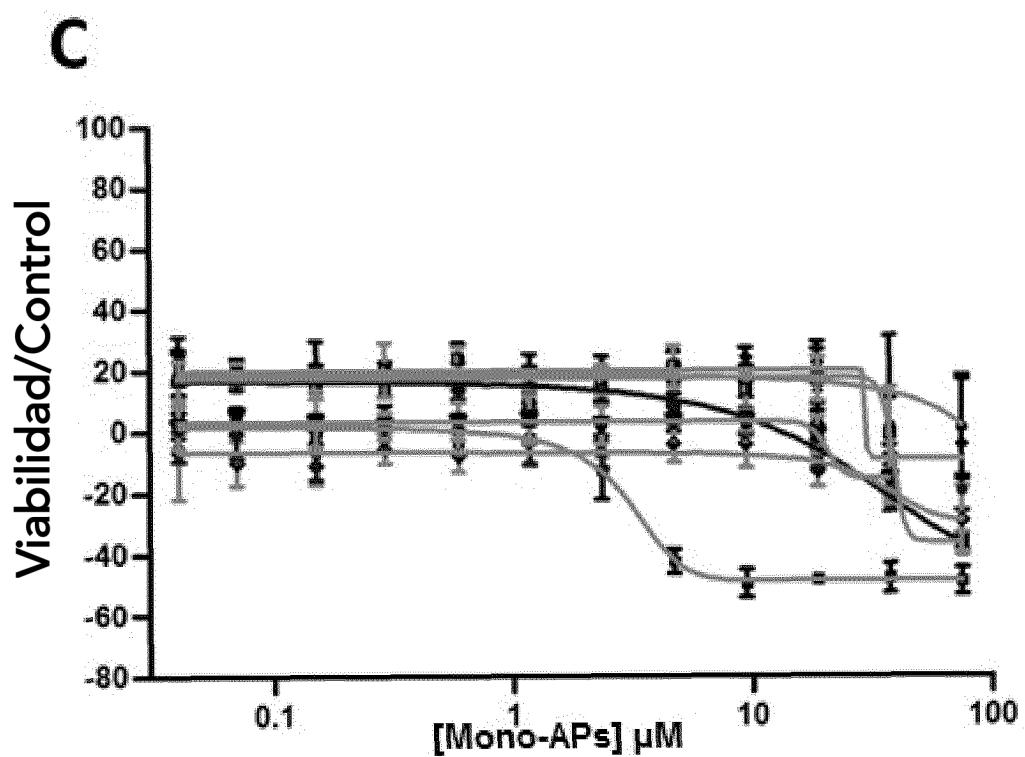


Figura 3C

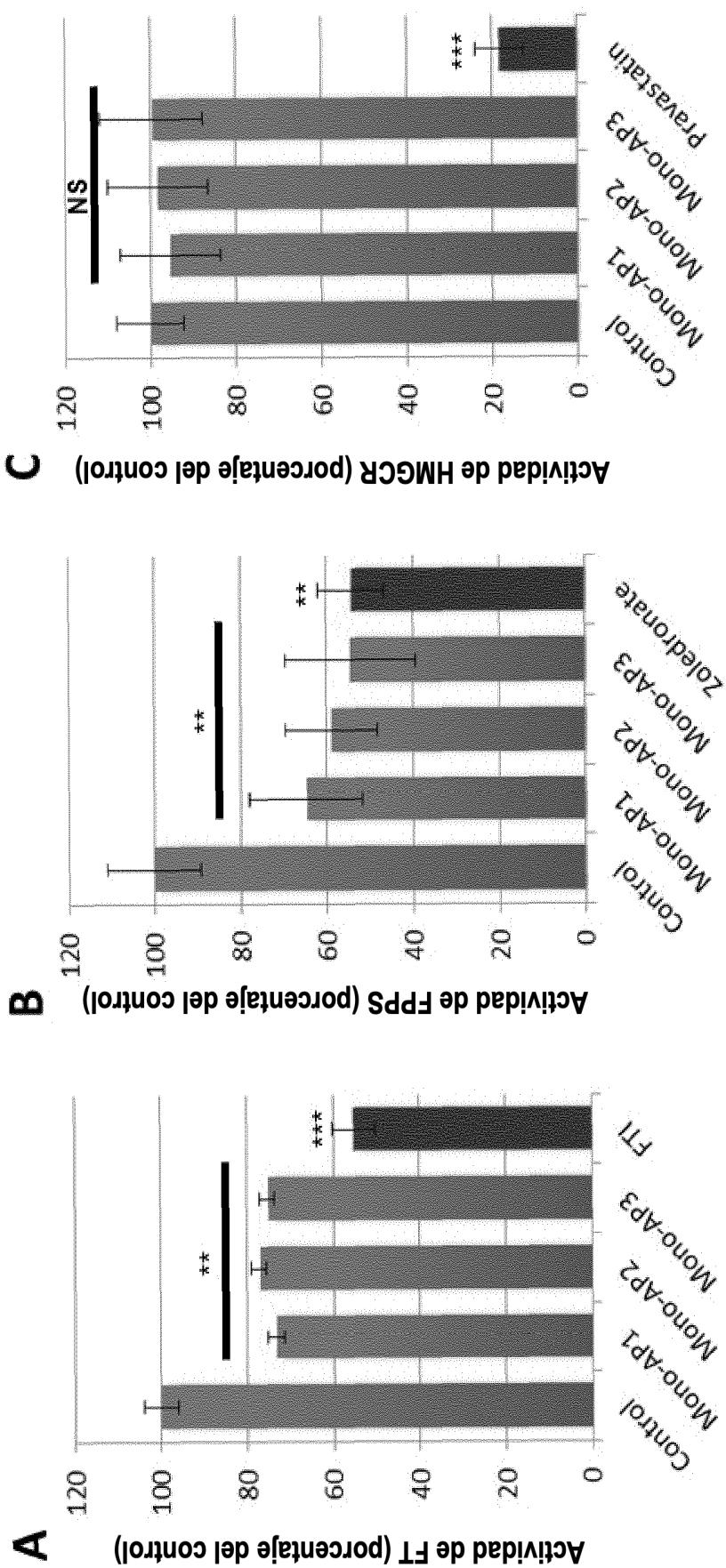


Figura 4

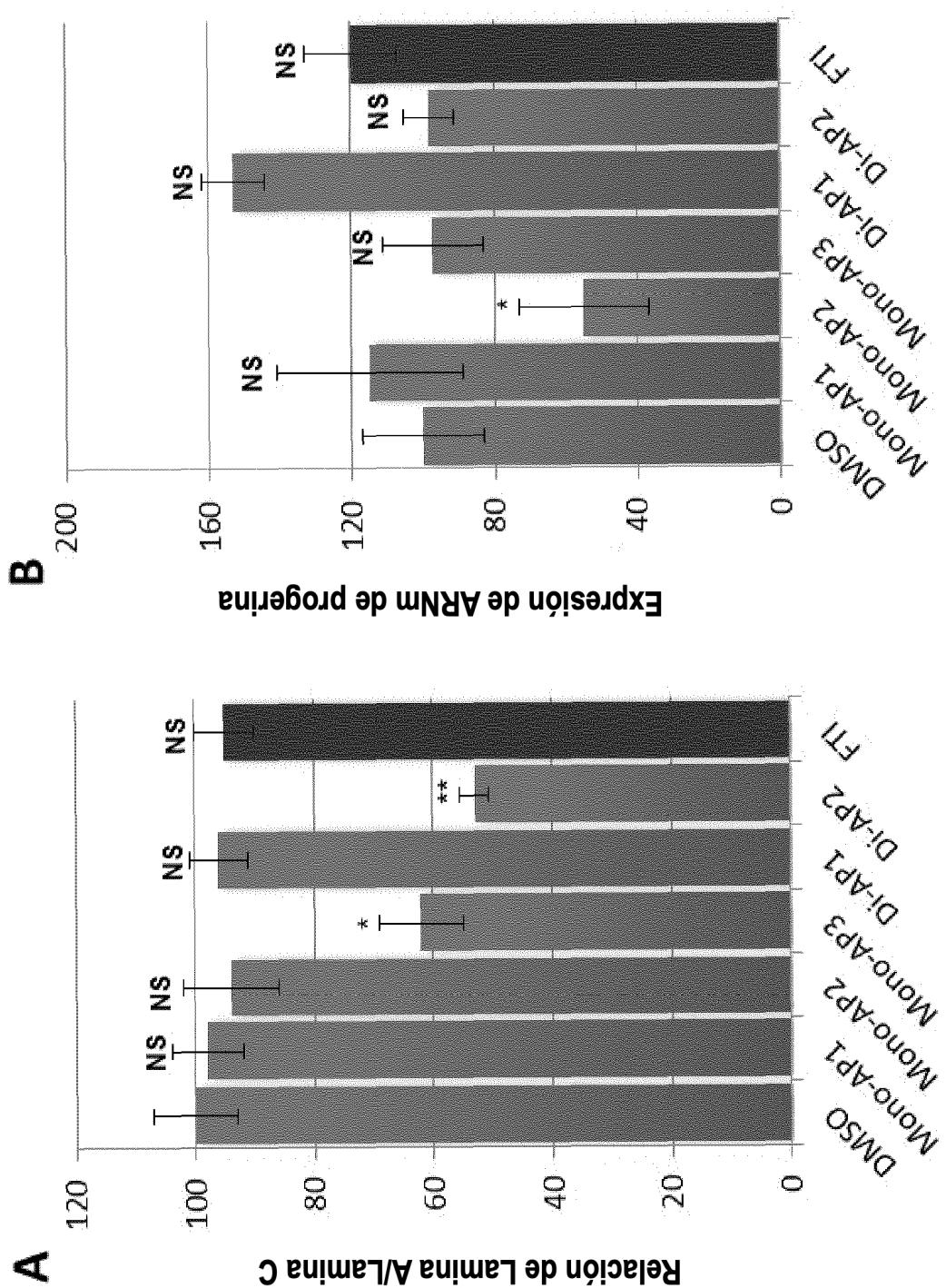


Figura 5

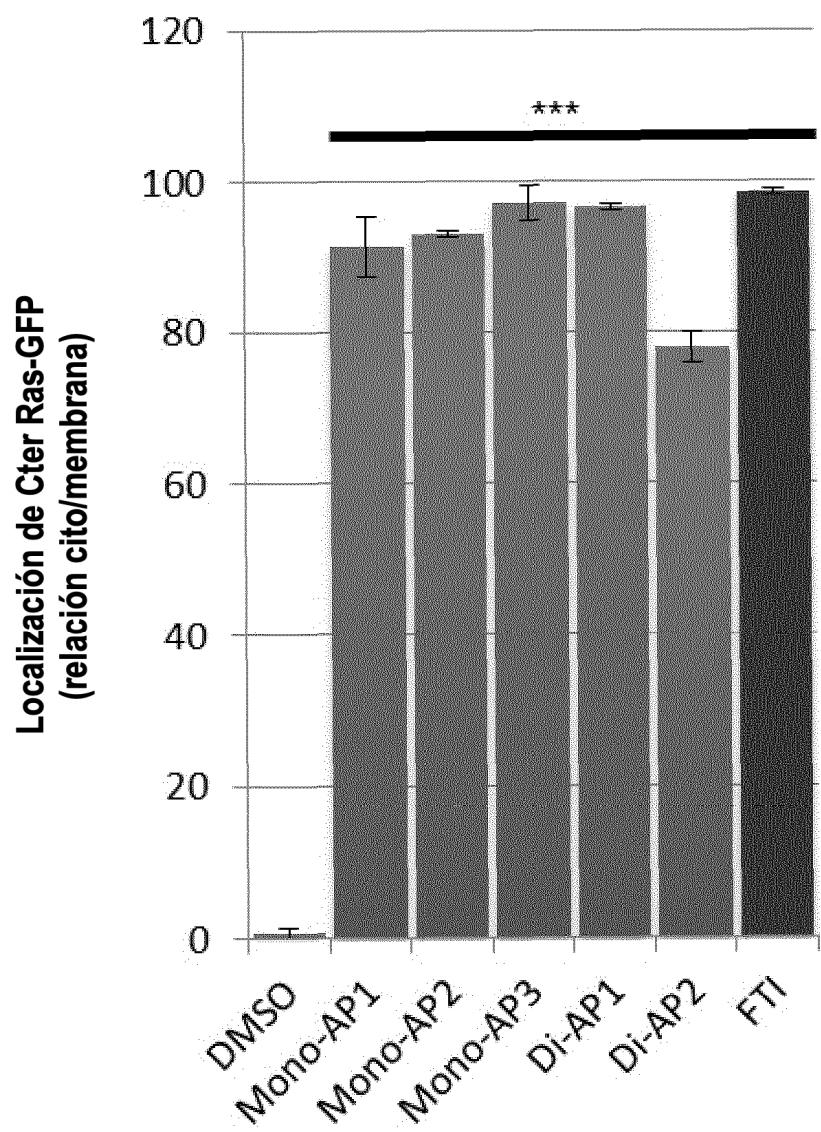


Figura 6

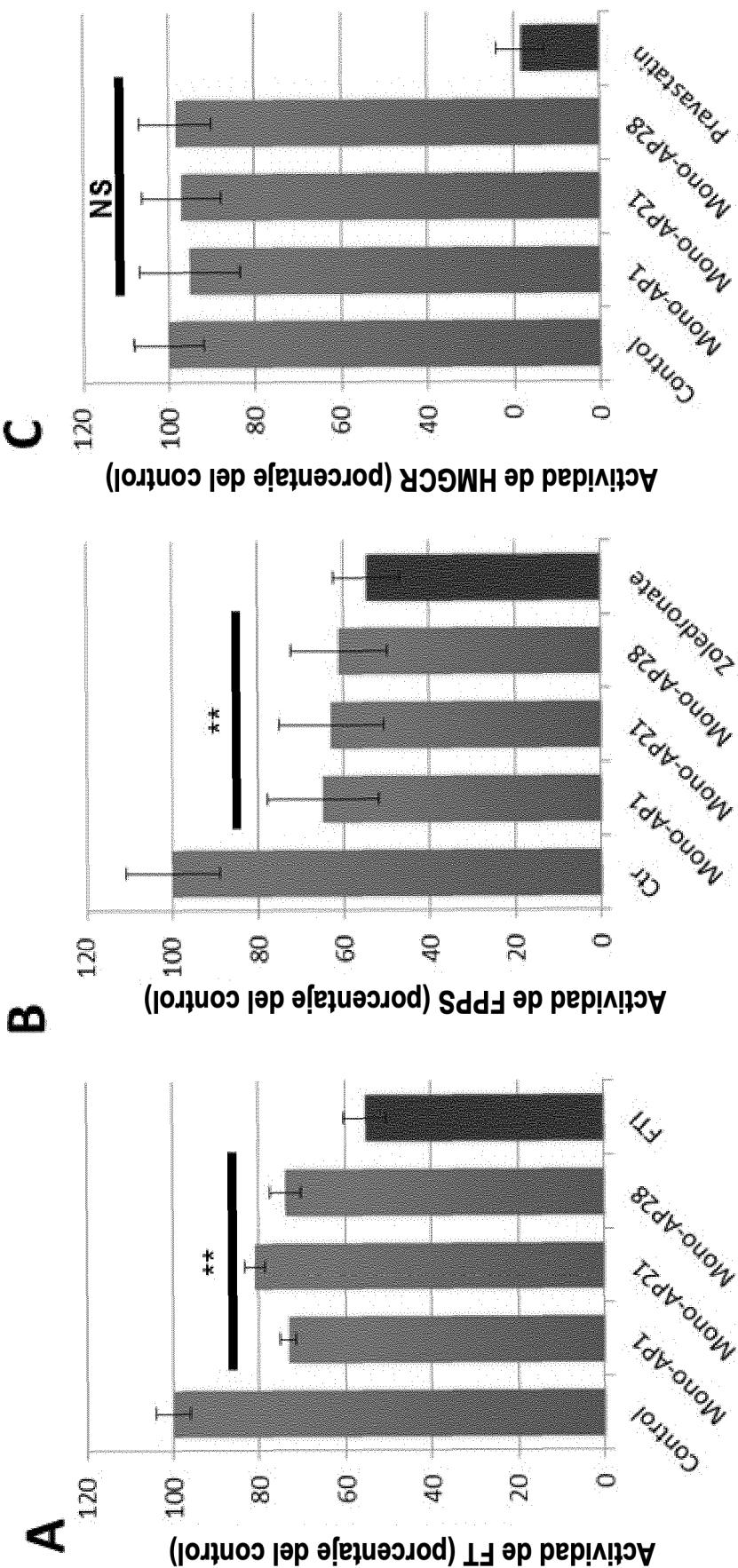


Figura 7