

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 207**

51 Int. Cl.:

C07D 413/14 (2006.01)

A61K 31/425 (2006.01)

A61K 31/43 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.11.2014** **PCT/IB2014/066402**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.06.2015** **WO15079411**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.11.2014** **E 14865441 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2019** **EP 3074391**

54 Título: **Inhibidores de la ARN polimerasa I y usos de los mismos**

30 Prioridad:

28.11.2013 US 201361910060 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.04.2020

73 Titular/es:

**TEL HASHOMER MEDICAL RESEARCH
INFRASTRUCTURE AND SERVICES LTD.
(100.0%)**

**The Chaim Sheba Medical Center, Tel HaShomer
5262000 Ramat-Gan, IL**

72 Inventor/es:

**ACHIRON, ANAT y
MASHIACH, ROI**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 754 207 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

Inhibidores de la ARN polimerasa I y usos de los mismos

Campo y antecedentes de la invención

5 La presente invención, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a la terapia y, más en particular, pero no exclusivamente, a nuevos inhibidores de la ARN polimerasa y a los usos de los mismos en métodos para tratar afecciones médicas que incluyen, por ejemplo, enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple y enfermedades proliferativas, tales como el cáncer.

10 Las enfermedades autoinmunes son causadas por una respuesta autoinmune, es decir, una respuesta inmune dirigida a una sustancia en el cuerpo del sujeto. Las características de las enfermedades autoinmunes varían y dependen del sitio afectado por la respuesta autoinmune.

15 La esclerosis múltiple (EM) es la enfermedad desmielinizante más común del sistema nervioso central (SNC) que afecta a adultos jóvenes (aparición de la enfermedad entre los 20 a 40 años de edad) y es la tercera causa principal de incapacidad después de los traumatismos y las enfermedades reumáticas, con un coste anual estimado de 34.000 dólares estadounidenses por paciente (coste a lo largo de la vida de 2,2 millones de dólares estadounidenses por paciente).

20 La enfermedad se caracteriza por la destrucción de mielina, asociada con la muerte de oligodendrocitos y pérdida de axones. El hallazgo patológico principal en la MS es la presencia de infiltración de células mononucleares, predominantemente de linfocitos T y macrófagos, que sobrepasan la barrera hematoencefálica e inducen una inflamación activa dentro del cerebro y de la médula espinal. Los síntomas neurológicos que caracterizan a la EM incluyen la pérdida de visión parcial o completa, diplopía, síntomas sensoriales, debilidad muscular que puede empeorar a parálisis completa, disfunción vesical y deficiencias cognitivas, que pueden conducir finalmente a una discapacidad significativa. Los múltiples focos inflamatorios asociados conducen a la destrucción de la mielina, a placas de desmielinización, gliosis y pérdida de axones dentro del cerebro y de la médula espinal que son las razones que contribuyen a las manifestaciones clínicas de la incapacidad neurológica.

25 La etiología de la EM no se conoce por completo. La enfermedad se desarrolla en sujetos predispuestos genéticamente expuestos a factores medioambientales aún indefinidos, y la patogénesis implica mecanismos autoinmunes asociados con células T auto-reactivas frente a antígenos de mielina. Está bien establecido que no sólo un gen dominante determina susceptibilidad genética para desarrollar EM, sino que son muchos genes, cada uno con diferente influencia, los que están implicados.

30 Clínicamente, en el 85% de los pacientes con EM la enfermedad se inicia con un transcurso de recaídas y remisiones (EMRR), y aproximadamente el 10-15% de los pacientes con EM tienen un transcurso a priori primario progresivo sin recaídas (EMPP). La EMRR se caracteriza por ataques inflamatorios con déficits neurológicos con periodos de remisiones entre las recaídas que varían en el tiempo. Después de un periodo de 10 años, aproximadamente el 50% de los pacientes con EMRR progresarán a una EM secundaria progresiva (EMPS), caracterizada por una disfunción neurológica permanente, con o sin recaídas e incapacidad progresiva.

40 La EM benigna (EMB) es una variante clínica de la EMRR en la que los pacientes desarrollan una discapacidad neurológica baja, en todo caso una enfermedad de al menos 10 años. Por consiguiente, este grupo de pacientes con EM no experimentan una incapacidad devastadora acumulativa a lo largo del tiempo y cuando estos pacientes se examinan neurológicamente y se puntúan mediante la Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EDSS, de sus siglas en inglés) reciben una puntuación que es igual o inferior a 3,0. Esta baja puntuación en la EDSS significa una discapacidad leve y cuando esta discapacidad baja ocurre después de más de 10 años del inicio de la enfermedad, el transcurso de la EM se define como benigna. La predicción de los pacientes que tendrán EMB es imposible en la actualidad y la definición de estos pacientes es retrospectiva. Los eventos moleculares responsables de la variante EMB de la enfermedad, no se conocen.

45 La Patente WO 2008/081435 divulga métodos y kits para predecir el pronóstico de un sujeto diagnosticado con esclerosis múltiple y los métodos de selección de un régimen de tratamiento de un sujeto diagnosticado con esclerosis múltiple.

50 Achiron A, et al., 2007 [Clinical and Experimental Immunology, 149:235-242] describe genes de unión de iones zinc y las rutas de regulación de la actividad de citoquinas que predicen el resultado en una esclerosis recurrente-remitente.

La Patente WO 2010/113096 divulga métodos para predecir el transcurso clínico y el tratamiento de la esclerosis múltiple.

55 Los fármacos aprobados actualmente para el tratamiento de la EM son o bien agentes antiinflamatorios en general o bien inmunomoduladores por lo que dan como resultado sólo efectos beneficiosos moderados en la supresión de la actividad de la enfermedad.

CX-5461 (véase, la Tabla 1 de a continuación) es una molécula pequeña que se diseñó para inhibir selectivamente la síntesis de ARNr mediante la inhibición de la ARN Polimerasa I (POL I o POL1), sin afectar a la síntesis de ARNm mediante la ARN Polimerasa II (Pol II), y sin inhibir la duplicación de ADN o la síntesis proteica (Russell J, Zomerdijs JC. Trends Biochem Sci 30:87-96, 2005; Drygin D, et al. Annu Rev Pharmacol Toxicol 50:131-156, 2010).

- 5 La inhibición de la POL1 da como resultado un estrés nucleolar que causa la liberación de proteínas ribosomales (RP) desde el nucléolo y la posterior activación de p53, dando como resultado la apoptosis celular [Kalita K, et al. J Neurochem 105:2286-2299, 2008]. En un estudio previo [Drygin D, et al. Cancer Res 71:1418-1430, 2011], se estudió la actividad antiproliferativa de CX-5461 en líneas celulares y demostró que CX-5461 inhibe la actividad de la POL-I en líneas celulares de cáncer humano.
- 10 Estudios recientes indican que la alteración del complejo SL1/ADNr por CX-5461 da como resultado la interferencia entre SL1 y ADNr. SL1, un complejo proteico que contiene factores asociados a la proteína de unión TATA, es responsable de la especificidad del promotor POLI1. SL1 realiza importantes funciones en la transcripción del complejo de unión, mediando las interacciones específicas entre la región promotora de ADNr y el complejo enzimático POL1, captando de esta manera la POL1, junto con un conjunto de factores asociados a POL1 similares a RRN3 para ADNr (Cavanaugh A, et al. *Gene Expr* 14:131-147, 2008).
- 15

La Publicación de la Solicitud de la Patente U.S. nº 2009/0093465 describe una familia de compuestos, que incluyen CX-5461, como moduladores de quinasa útiles en el tratamiento de enfermedades proliferativas, tales como el cáncer.

- 20 Recientemente, se ha descubierto un papel para la inhibición de la ruta de la ARN polimerasa I (POL1) en la regulación de la actividad de la enfermedad de la EM mediante la supresión de la inflamación y la mejora de la apoptosis de los linfocitos auto-reactivos. El mecanismo que sugiere que mediante la inhibición de la ruta POL1 se afecta el proceso de la enfermedad se ha demostrado en las FIGs 1 y 2A-B de la técnica anterior.

- 25 Los descubrimientos anteriores han apoyado una base para dirigirse directamente a la ruta de transcripción de la ARN Polimerasa-I como una estrategia para la inducción selectiva de la apoptosis en EM para transformar la enfermedad activa de EMRR a un subtipo EMB preferible. Se demostró que la administración de un inhibidor de la POL1 (POL1-I) específico prevenía la Encefalomielite Autoinmune Experimental (EAE) cuando se administra en la inducción de la enfermedad y para reducir la gravedad de la enfermedad cuando se administra al inicio de la enfermedad clínica [Achiron et al. 2013, J Neuroimmunol 263:91-97], confirmando, por tanto, que un inhibidor de la POL1 actúa específicamente mediante la inhibición de las moléculas asociadas a la polimerasa I.

- 30 La Patente WO 2012/123938 describe los usos de la familia de compuestos, que incluyen CX-5461 y derivados del mismo, en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, tales como la EM.

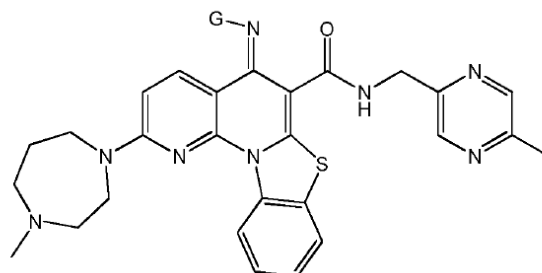
- 35 La técnica anterior adicional incluye Leuenroth SJ y Crews CM (Triptolide-induced transcriptional arrest is associated with changes in nuclear substructure. Cancer Res. 2008; 68:5257-5266); Liu Y, et al. (Triptolide, a component of Chinese herbal medicine, modulates the functional phenotype of dendritic cells. Transplantation. 2007; 84:1517-1526); Wang Y, et al. (Triptolide modulates T-cell inflammatory responses and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. J Neurosci Res. 2008; 86:2441-2449; EP 0983256; PCT/US1998/008562; WO9852933A1; Alice H. Cavanaugh, et al., 2002 (Rrn3 Phosphorylation is a regulatory checkpoint for ribosome biogenesis J. Biol. Chem, 2002; 277:27423-27432); PCT Pub. Nº WO 03/081201.

Compendio de la invención

- 40 En base a los descubrimientos de que la inhibición de la ARN Polimerasa-I juega un papel en la regulación de la EM y en otras enfermedades autoinmunes, así como en la proliferación celular, los inventores de la presente memoria han examinado los inhibidores de la POL-1 que podrían mostrar un efecto mejorado en comparación con los inhibidores de POL1 conocidos actualmente (por ejemplo, POL1-I y análogos estructurales de los mismos).

- 45 Los inventores de la presente invención han descubierto que mediante la modificación de una característica estructural de CX-5461 (POL1-I) o de análogos del mismo, con el fin de reducir o incluso revertir su capacidad de participación en la formación de enlaces de hidrógeno, se obtienen inhibidores que muestran un mejor rendimiento.

Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un compuesto representado por la Fórmula Ib:



Fórmula Ib

en donde G es hidrógeno, alquilo, arilo, haloarilo o alcoxilo.

- 5 Según algunas realizaciones de la presente invención, G es arilo.

Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un compuesto como el que se describe en la presente memoria, para usar en el tratamiento de una enfermedad autoinmune.

Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un compuesto como el descrito en la presente memoria, para usar en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad autoinmune.

- 10 En la presente memoria se divulga un método para tratar una enfermedad autoinmune en un sujeto, el método que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz terapéuticamente del compuesto de Fórmula I como se describe en cualquiera de las realizaciones respectivas de la presente memoria.

Según algunas realizaciones de la presente invención, la enfermedad autoinmune es la esclerosis múltiple.

- 15 Según algunas realizaciones de la presente invención, la esclerosis múltiple es la esclerosis múltiple recurrente-remitente (EMRR) o una esclerosis múltiple benigna (EMB).

Según algunas realizaciones de la presente invención, el tratamiento de la esclerosis múltiple comprende cambiar el transcurso de la enfermedad de una EMRR a una EMB.

Según algunas realizaciones de la presente invención, la enfermedad autoinmune es tratable mediante la inhibición de una actividad de la ARN Polimerasa I.

- 20 Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un compuesto como el descrito en la presente memoria, para usar en el tratamiento de una enfermedad o trastorno proliferativo.

Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un uso del compuesto como el descrito en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno proliferativo.

- 25 Se describe en la presente memoria un método para tratar una enfermedad o trastorno proliferativo, el método que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz terapéuticamente del compuesto como se describe en la presente memoria.

Según algunas realizaciones de la presente invención, la enfermedad o trastorno proliferativo es tratable mediante la inhibición de una actividad de una proteína quinasa.

- 30 En la presente memoria se describe un método para tratar una enfermedad o trastorno proliferativo, el método que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz terapéuticamente del compuesto como se describe en la presente memoria.

Según algunas realizaciones de la presente invención, la enfermedad o trastorno proliferativo es tratable mediante inhibición de una actividad de una proteína quinasa.

- 35 Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un compuesto como el descrito en la presente memoria, para usar en la inhibición de una actividad de la ARN Polimerasa I y/o para tratar una enfermedad o trastorno tratable mediante la inhibición de una actividad de la ARN Polimerasa I.

Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un uso como el compuesto descrito en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para inhibir una actividad de la ARN Polimerasa I y/o para tratar una enfermedad o trastorno tratable mediante la inhibición de una actividad de la ARN Polimerasa I.

- 40

Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un método de inhibición de una actividad de la ARN Polimerasa I, el método que comprende poner en contacto la ARN Polimerasa I con una cantidad eficaz de un compuesto como el descrito en la presente memoria.

Según algunas realizaciones de la presente invención, la puesta en contacto se realiza *in vitro*.

5 Según algunas realizaciones de la presente invención, la puesta en contacto se realiza *in vivo*.

Según algunas realizaciones de la presente invención, el método es para el tratamiento de una enfermedad tratable mediante inhibición de una actividad de la ARN Polimerasa I.

10 Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un compuesto como el descrito en la presente memoria, para usar en la inhibición una actividad de una proteína quinasa y/o para tratar una enfermedad o trastorno tratable mediante la inhibición de una actividad de una proteína quinasa.

Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un uso de un compuesto como el descrito en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para inhibir una actividad de una quinasa y/o para tratar una enfermedad o trastorno tratable mediante la inhibición de una actividad de una proteína quinasa.

15 Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporciona un método para inhibir una actividad de una proteína quinasa, el método comprende poner en contacto la proteína quinasa con una cantidad eficaz de un compuesto como el descrito en la presente memoria.

Según algunas realizaciones de la presente invención, la puesta en contacto se realiza *in vitro*.

Según algunas realizaciones de la presente invención, la puesta en contacto se realiza *in vivo*.

20 Según algunas realizaciones de la presente invención, el método es para tratar una enfermedad tratable mediante inhibición de una actividad de una proteína quinasa.

Un "compuesto como el descrito en la presente memoria" se refiere a un compuesto que tiene la Fórmula Ib como la descrita en cualquiera de sus realizaciones respectivas, y para cualquier otro compuesto descrito en la siguiente descripción contemplado por las realizaciones de la presente invención.

25 A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y/o científicos empleados en la presente memoria tienen el mismo significado que el que se entiende comúnmente por un experto en la técnica a la que la invención pertenece. Aunque se pueden emplear métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria para la práctica o el ensayo de las realizaciones de la invención, a continuación se describen ejemplos de métodos y/o materiales. En caso de conflicto, dominará la memoria de patente, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, métodos, y ejemplos son sólo ilustrativos y no se destinan necesariamente

30 como limitantes.

Breve descripción de los dibujos

35 Algunas realizaciones de la invención se describen en la presente memoria, sólo a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos e imágenes acompañantes. Con referencia a continuación a los dibujos e imágenes en detalle, se hace hincapié en que los datos mostrados son a modo de ejemplo y con propósitos ilustrativos de debate de realizaciones de la invención. A este respecto, la descripción tomada con relación a los dibujos e imágenes es obvia para los expertos en la técnica se pueden practicar como realizaciones de la invención.

En los dibujos:

FIG. 1 (Técnica anterior) presenta una ilustración esquemática del mecanismo molecular POL1, que muestra el efecto de POL1 sobre la apoptosis y la proliferación.

40 FIGs. 2A-2B (Técnica anterior) presenta ilustraciones esquemáticas del efecto de la inhibición de PoL1 en esclerosis múltiple.

FIGs. 3A-B presenta estructuras químicas y rutas sintéticas de ejemplos de compuestos según algunas realizaciones de la presente invención.

45 FIGs. 4A-C presenta gráficas de barras que muestran el efecto de ejemplos de compuestos según algunas realizaciones de la presente invención en la supresión de la proliferación de esplenocitos de ratón, Como se determinó en un ensayo XTT.

FIG. 5 presenta gráficos que muestran el efecto de varias concentraciones del Compuesto 10 (RAM-An) sobre la puntuación clínica EAE, como se observó en un modelo de ratón de prevención EAE.

50 Las FIGs 6A-B presentan gráficas que muestran el perfil dependiente del tiempo del Compuesto 10 (FIG. 6A) y en referencia al Compuesto 1 (FIG. 6B) en suero de ratón después de la administración por sonda oral.

Descripción de realizaciones específicas de la invención

La presente invención, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a la terapia, y más particularmente, pero no exclusivamente, a nuevos inhibidores de la ARN Polimerasa I y a los usos de los mismos en métodos para tratar afecciones médicas que incluyen, por ejemplo, enfermedades autoinmunes de esclerosis múltiples y enfermedades proliferativas, tales como el cáncer.

Antes de explicar en detalle al menos una realización de la invención entiende que la invención no está limitada necesariamente en su aplicación a los detalles establecidos en la siguiente descripción o ejemplificada por los Ejemplos. La invención es competente en otras realizaciones o se puede practicar o llevar a cabo de varios modos.

Las realizaciones de la presente invención provienen, al menos en parte, de descubrimientos previos que demuestran una caracterización de la firma de la expresión genética en muestras de sangre de sujetos con EMRR y EMB, a través de la cual la principal ruta operativa era la ARN Polimerasa I (POL1). Estos descubrimientos condujeron previamente a los inventores de la presente memoria a explorar el papel de los inhibidores de la POL1 en el tratamiento, y opcionalmente en el tratamiento personalizado, de la EM.

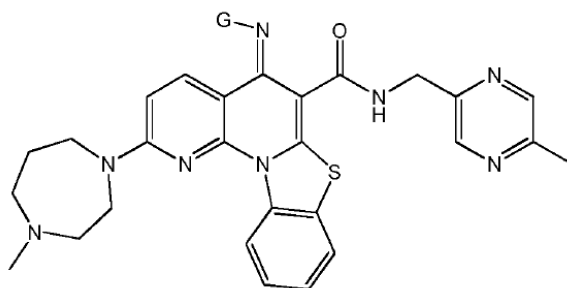
Dirigidos por el hecho de que los productos comerciales actuales para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, y particularmente la EM, se emplean intramuscularmente, intradérmicamente o como inyecciones intravenosas para el reparto de fármacos, y que conducen a picos plasmáticos incontrolados, efectos no deseados tales como reacciones similares a la gripe y reacciones locales dolorosas, y por tanto, acompañadas por una alta tasa de incumplimiento para estos tratamientos, los inventores de la presente memoria investigaron el empleo de inhibidores de la POL1-I, que se caracterizan por biodisponibilidad oral, y una mejora del cumplimiento de los pacientes y del beneficio de los pacientes en el aspecto de los efectos secundarios y del alivio del dolor.

Como se describe anteriormente, se ha descrito previamente un inhibidor de la POL1, llamado CX-5461, y análogos estructurales del mismo, y su uso en la inhibición de una actividad de la proteína quinasa y en la proliferación celular. Véase, por ejemplo, la Solicitud de Publicación de Patente U.S. N° 2009/0093465.

Se ha descrito una familia de tales inhibidores de POL1, que incluyen CX-5461, para usar en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, en la Patente WO 2012/123938.

En una busca de inhibidores de POL1 que muestren un mejor efecto terapéutico, tal como, por ejemplo, una mejor ventana terapéutica (más extensa), los inventores de la presente memoria han creado y preparado con éxito y ensayado una nueva familia de inhibidores POL1, que se pueden emplear para tratar enfermedades autoinmunes, tal como la esclerosis múltiple, enfermedades proliferativas como el cáncer, y otras afecciones médicas que se asocian con la inhibición de la POL1 y/o una proteína quinasa.

Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención se proporcionan compuestos que se pueden representar colectivamente mediante la Fórmula Ib:



Fórmula Ib,

en donde G es hidrógeno, alquilo, arilo, haloarilo o alcoxilo.

Ejemplos de tales compuestos se presentan en la Tabla 1, de aquí en lo sucesivo, como referencia al Compuesto 3 y a los Compuestos 4, 5, 6, 7, 8 y 10.

En algunas realizaciones, G es un grupo que retira electrones.

Sin estar vinculado a ninguna teoría en particular, se asume que los grupos que retiran electrones reducen la electronegatividad del nitrógeno de la imina y mejoran el resultado en una interacción intramolecular del enlace de hidrógeno más débil con el presunto hidroxilo adyacente formado descrito anteriormente, e incrementa las interacciones intermoleculares del enlace de hidrógeno del grupo hidroxilo.

En algunas realizaciones, G es un grupo voluminoso como se define anteriormente.

Como se emplea en la presente memoria, la frase “voluminoso” describe un grupo que ocupa un gran volumen. La voluminosidad de un grupo se determina mediante el número y el tamaño de los átomos que componen el grupo, mediante su disposición, y mediante las interacciones entre los átomos (por ejemplo, enlaces largos, interacciones repulsivas). Normalmente, los alquilos inferiores, lineales, son menos voluminosos que los alquilos ramificados; las fracciones cíclicas son más voluminosas que las fracciones lineales; las moléculas bicíclicas son más voluminosas que los cicloquilos, etc.

Ejemplos de sustituyentes adecuados que retiran electrones de una imina incluyen, pero no se limitan a, arilos sustituidos o no sustituidos, que, cuando se sustituyen, se sustituyen preferiblemente por fracciones químicas y en una posición que aumente la naturaleza de retirada de electrones del arilo; heteroarilos en el que se posiciona el heteroátomo, tal que muestra retirada de electrones con respecto al nitrógeno de imina; y cicloalquilos voluminosos sustituidos por uno o más sustituyentes que retiran de electrones.

Las frases “sustituyente que retira electrones” o “grupo que retira electrones” son bien conocidas por los expertos en la técnica y se emplean en la presente memoria de manera intercambiable significando que es un grupo funcional que retira electrones por sí mismo más que si un átomo de hidrógeno ocupara la misma posición en la molécula, como se describe en J. March, *Advanced Organic Chemistry*, tercera edición, Pub: John Wiley e Hijos, Inc. (1985).

Ejemplos de sustituyentes que retiran electrones incluyen, pero no se limitan a, halógeno, pseudohalógeno, haloalquilo, haloalíclico, haloarilo, carbonilo, éster, $-C(=O)H$ y cualquier combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, G es un arilo y el compuesto es el Compuesto 10 (véase, la Tabla 1 y la FIG. 3B).

Cabe señalar que se asume una inclusión de fracciones que mejoran la hidrofobicidad del compuesto, tal como, por ejemplo, arilo, sin estar vinculado a ninguna teoría particular, para mejorar la biodisponibilidad del compuesto, en comparación con compuestos que presentan una fracción de carbonilo en la misma posición.

El término “hidrofóbico”, por tanto, se traduce a menudo en valores tales como Log P, que describe el coeficiente de partición de una sustancia entre una fase acuosa (agua) y una fase oleosa (1-octanol).

Para emplear agentes farmacéuticos, el compuesto de algunas realizaciones de la invención es estéril.

Según algunas realizaciones de la invención, el compuesto se purifica empleando métodos conocidos.

Según algunas realizaciones de la invención, el compuesto tiene una pureza del 95-99,9%.

Para cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el compuesto puede estar en una forma de sal, por ejemplo, una sal aceptable farmacéuticamente, y/o en una forma de un profármaco.

Como se emplea en la presente memoria, la frase “sal aceptable farmacéuticamente” se refiere a unas especies del compuesto parental cargadas y su contra-ión, que normalmente se emplean para modificar las características de solubilidad del compuesto parental y/o para reducir cualquier irritación significativa a un organismo por el compuesto parental, mientras que no se anule la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado.

En el contexto de algunas de las presentes realizaciones, una sal aceptable farmacéuticamente de los compuestos descritos en la presente memoria puede ser opcionalmente sales de adición de ácido que comprenden al menos un grupo básico (por ejemplo, amina) del compuesto que está en una forma cargada positivamente (por ejemplo, un ión de amonio), en combinación con al menos un contra-ión, derivado del ácido seleccionado, que forma una sal aceptable farmacéuticamente.

Las sales de adición de ácido de los compuestos descritos en la presente memoria pueden ser, por lo tanto, complejos formados entre uno o más grupos amino del fármaco y uno o más equivalentes de un ácido.

Las sales de adición de ácido pueden incluir una variedad de ácidos orgánicos e inorgánicos, tales como, pero no limitados a, ácido clorhídrico el cual proporciona una sal de adición de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico que proporciona una sal de adición de ácido bromhídrico, ácido acético que proporciona una sal de adición de ácido acético, ácido ascórbico que proporciona una sal de adición de ácido ascórbico, ácido bencenosulfónico que proporciona una sal de adición de besilato, ácido canforsulfónico que proporciona una sal de adición de ácido canforsulfónico, ácido cítrico que proporciona una sal de adición de ácido cítrico, ácido maleico que proporciona una sal de adición de ácido maleico, ácido málico que proporciona una sal de adición de ácido málico, ácido metanosulfónico que proporciona una sal de adición de ácido metanosulfónico (mesilato), ácido naftalenosulfónico que proporciona una sal de adición de ácido naftalenosulfónico, ácido oxálico que proporciona una sal de adición de ácido oxálico, ácido fosfórico que proporciona una sal de adición de ácido fosfórico, ácido toluenosulfónico que proporciona una sal de adición de ácido p-toluenosulfónico, ácido succínico que proporciona una sal de adición de ácido succínico, ácido sufúrico que proporciona una sal de adición de ácido sulfúrico, ácido tartárico que proporciona una sal de adición de ácido tartárico y ácido trifluoroacético que proporciona una sal de adición de ácido trifluoroacético. Cada una de estas sales de adición de ácido pueden ser o bien una sal de adición de ácido o bien varias sales de adición de ácido, como estos términos se definen en la presente memoria.

Dependiendo de las proporciones estequiométricas entre el grupo o grupos básico o ácido cargado en el compuesto (por ejemplo, grupo o grupos amina y el contra-ión en la sal, las sales de adición de ácido o base pueden ser o bien sales de mono-adición o bien sales de poli-adición.

5 La frase “sal de mono-adición”, como se emplea en la presente memoria, se refiere a un sal en la que la proporción estequiométrica entre el contra-ión y la forma cargada del compuesto es 1:1, tal que la sal de adición incluye un equivalente molar del contra-ión por un equivalente molar del compuesto.

10 La frase “sal de poli-adición”, como se emplea en la presente memoria, se refiere a una sal en la que la proporción estequiométrica entre el contra-ión y la forma cargada del compuesto es mayor que 1:1 y es, por ejemplo, 2:1, 3:1, 4:1, etcétera, tal que la sal de adición incluye dos o más equivalentes molares del contra-ión por equivalente molar del compuesto.

15 Como se emplea en la presente memoria, “profármaco” se refiere a un compuesto que se convierte en el cuerpo en un compuesto activo (por ejemplo, un inhibidor SYNJ1 descrito en la presente memoria). Un profármaco se diseña normalmente para facilitar la administración, por ejemplo, mediante la mejora de la absorción. Un profármaco puede comprender, por ejemplo, el compuesto activo modificado con grupos éster, por ejemplo, en donde uno o más grupos hidroxilo del compuesto activo se modifica por un grupo acilo (por ejemplo, acetilo) para formar un grupo éster, y/o en donde uno o más ácidos carboxílicos del compuesto activo se modifican por un alquilo (por ejemplo, etilo) para formar un grupo éster.

Además, cada uno de los compuestos descritos en la presente memoria, incluyendo las sales de los mismos, pueden estar en una forma de solvato o un hidrato de los mismos.

20 El término “solvato” se refiere a un complejo de estequiometría variable (por ejemplo, di-, tri-, tetra-, penta-, hexa-, etcétera), que se forma mediante un soluto (los compuestos heterocíclicos descritos en la presente memoria) y un disolvente, de este modo el disolvente no interfiere con la actividad biológica del soluto.

El término “hidrato” se refiere a un solvato, como se define anteriormente, donde el disolvente es agua.

25 Las presentes realizaciones engloban además cualquiera de los estereoisómeros (enantiómeros y diastereómeros) de los compuestos descritos en la presente memoria, excepto en las realizaciones en donde se requiere un estereoisómero específico, así como cualquier isomorfo de los mismos.

30 Como se emplea a través de toda la memoria, el término “alquilo” se refiere a un hidrocarburo alifático saturado que incluye a los grupos de cadena lineal y a los de cadena ramificada. Preferiblemente, el grupo alquilo tienen de 1 a 20 átomos de carbono. Siempre que se indique en la presente memoria un intervalo numérico; por ejemplo, “1-20”, implica que el grupo, en este caso el grupo alquilo, puede contener el grupo alquilo, puede contener 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta e incluyendo 20 átomos de carbono. Más preferiblemente, el alquilo es un alquilo de tamaño medio que tiene de 1 a 10 átomos de carbono. Lo más preferible, a menos que se indique de otra manera, es que el alquilo sea un alquilo pequeño que tenga de 1 a 4 átomos de carbono. El grupo alquilo se puede sustituir o no. Cuando se sustituye, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, 35 cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, un grupo heterocíclico, halógeno, hidroxilo, alcoxilo, tiohidroxilo, tioalcoxilo, tioariloxilo, sulfinilo, sulfonilo, ciano, azida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxilo, O-carboxilo, sulfonamido, hidracina, y amino, como estos términos se definen en la presente memoria.

40 Un grupo “cicloalquilo” se refiere a un grupo de carbono monocíclico o anillo fusionado (es decir, anillos que comparten un par de átomos de carbono adyacentes) en donde uno o más de los anillos no tienen un sistema de electrones- π conjugado completamente. Ejemplos, sin limitación, de grupos cicloalquilo son ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, ciclopenteno, ciclohexano, ciclohexadieno, cicloheptano, cicloheptatrieno, y adamantano. Un ciclo cicloalquilo se puede sustituir o no. Cuando se sustituye, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, alquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, un grupo heterocíclico, halógeno, hidroxilo, alcoxilo, ariloxilo, 45 tiohidroxilo, tioalcoxilo, tioariloxilo, sulfinilo, sulfonilo, ciano, nitro, azida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxilo, O-carboxilo, sulfonamido, hidracina, y amino, como estos términos se definen en la presente memoria.

Un “grupo alqueno” se refiere a un grupo alquilo que consiste en al menos dos átomos de carbono y al menos un enlace doble carbono-carbono.

50 Un grupo “alquino” se refiere a un grupo alquilo que consiste en al menos dos átomos de carbono y al menos un enlace triple carbono-carbono.

55 Un grupo “arilo” se refiere a un anillo monocíclico o policíclico fusionado (es decir, anillos que comparten pares de átomos de carbono adyacentes) que tiene un sistema de electrones- π conjugado completamente. Ejemplos, sin limitación, de grupos arilo son fenilo, naftalenilo y antraceno. El grupo arilo se puede sustituir o no. Cuando se sustituye, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, grupo heterocíclico, halógeno, hidroxilo, alcoxilo, ariloxilo, tiohidroxilo, tioalcoxilo, tioariloxilo, sulfinilo, sulfonilo,

ciano, azida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxilo, O-carboxilo, sulfonamido, hidracina, y amino, como estos términos se definen en la presente memoria.

5 Un grupo "heteroarilo" se refiere a un grupo de anillo monocíclico o fusionado (es decir, anillos que comparten pares de átomos de carbono adyacentes) que tiene en el anillo o anillos uno o más átomos, tal como, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre y, que tienen además, un sistema de electrones-pi conjugado completamente. Ejemplos, sin limitación, de grupos heteroarilo incluyen pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirimidina, quinoleína, isoquinoleína y purina. El grupo heteroarilo se puede sustituir o no. Cuando se sustituye, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, un grupo heteroalíclico, halógeno, hidroxilo, alcoxilo, ariloxilo, tiorhidroxilo, tioalcoxilo, tioariloxilo, sulfonilo, sulfonilo, ciano, nitro, azida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxilo, O-carboxilo, sulfonamido, hidracina, y amino, como estos términos se definen en la presente memoria.

15 Un grupo "heteroalíclico" se refiere a un grupo de anillo monocíclico o fusionado que tiene en el anillo o anillos uno o más átomos, tal como, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre. Los anillos pueden tener uno o más enlaces dobles. Sin embargo, los anillos no tienen un sistema de electrones-pi conjugado completamente. El grupo heteroalíclico se puede sustituir o no. Cuando se sustituye, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, pares de electrones en solitario, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, un grupo heteroalíclico, halógeno, hidroxilo, alcoxilo, ariloxilo, tiorhidroxilo, tioalcoxilo, tioariloxilo, sulfonilo, sulfonilo, ciano, nitro, azida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxilo, O-carboxilo, sulfonamido, hidracina, y amino, como estos términos se definen en la presente memoria. Ejemplos representativos son piperidina, piperazina, tetrahidrofurano, tetrahidropirano, morfina y similares.

Un grupo "hidroxilo" se refiere a un grupo -OH.

25 Como se emplea en la presente memoria, los términos "amina" y "amino" se refiere bien a un grupo -NR'R", en donde R' y R" se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, grupo heteroalíclico (unido a través de un carbono de un anillo), arilo y heteroarilo (unido a través de un carbono de un anillo). R' y R" se unen a través de un átomo de carbono de los mismos. Opcionalmente, R' y R" se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo que comprende de 1 a 4 átomos de carbono. Opcionalmente, R' y R" son hidrógeno.

30 Un grupo "azida" se refiere a un grupo -N=N+=N-.

Un grupo "alcoxilo" se refiere a ambos grupos -O-alquilo y -O-cicloalquilo, como se define en la presente memoria.

Un grupo "ariloxilo" se refiere a ambos grupos -O-arilo y -O-heteroarilo, como se define en la presente memoria.

Un grupo "tiorhidroxilo" o "tiol" se refiere a un grupo -SH.

35 Un grupo "tioalcoxilo" se refiere a ambos grupos -S-alquilo, y al grupo -S-cicloalquilo, como se define en la presente memoria.

Un grupo "tioariloxilo" se refiere a ambos grupos -S-arilo, y al grupo -S-heteroarilo, como se define en la presente memoria.

Un grupo "disulfuro" se refiere a ambos grupos -S-tioalcoxilo, y al grupo -S-tioariloxilo, como se define en la presente memoria.

40 Un enlace disulfuro describe un enlace -S-S-.

Un grupo "carbonilo" se refiere a un grupo -C(=O)-R', donde R' se define como anteriormente, o donde R' y C forman una parte de una fracción cíclica, tal como un grupo cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heteroalíclico, como se define en la presente memoria.

Un grupo "tiocarbonilo" se refiere a un grupo -C(=S)-R', donde R' es como se define en la presente memoria.

45 Un grupo "C-carboxilo" se refiere a un grupo -C(=O)-O-R', donde R' es como se define en la presente memoria.

Un grupo "O-carboxilo" se refiere a un grupo -R'C(=O)-O-, donde R' es como se define en la presente memoria.

Un grupo "oxo" se refiere a un grupo =O.

Un grupo "tioxo" se refiere a un grupo =S.

50 Un grupo "carboxilato" o "carboxilo" engloba a ambos grupos C-carboxilo y O-carboxilo, como se define en la presente memoria.

Un grupo "ácido carboxílico" se refiere a un grupo C-carboxilo en el que R' es hidrógeno.

Un grupo "tiocarboxilo" o "tiocarboxilato" se refiere a un grupo $-C(=S)-O-R'$ y $-O-C(=S)R'$.

Un "éster" se refiere a un grupo C-carboxilo en donde R' no es hidrógeno.

Un enlace éster se refiere a un enlace $-O-C(=O)-$.

5 Un grupo "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

Un grupo "sulfínico" se refiere a un grupo $-S(=O)-R'$, donde R' es como se define anteriormente.

Un grupo "sulfónico" se refiere a un grupo $-S(=O)_2-R'$, donde R' es como se define anteriormente.

Un grupo "sulfonato" se refiere a un grupo $-S(=O)_2-O-R'$, donde R' es como se define anteriormente.

Un grupo "sulfato" se refiere a un grupo $O-S(=O)_2-O-R'$, donde R' es como se define anteriormente.

10 Un grupo "sulfonamida" o "sulfonamido" engloba a ambos grupos S-sulfonamido y N-sulfonamido, como se define en la presente memoria.

Un grupo "S-sulfonamido" se refiere a un grupo $-S(=O)_2-NR'R''$, donde cada uno de los R' y R'' es como se define en la presente memoria.

15 Un grupo "N-sulfonamido" se refiere a un grupo $R'-S(=O)_2-NR'R''$, donde cada uno de los R' y R'' es como se define en la presente memoria.

Un grupo "O-carbamilato" se refiere a un grupo $-OC(=O)-NR'R''$, donde cada uno de los R' y R'' es como se define en la presente memoria.

Un grupo "N-carbamilato" se refiere a un grupo $R'OC(=O)-NR''$, donde cada uno de los R' y R'' es como se define en la presente memoria.

20 Un grupo "carbamilato" o "carbamato" engloba a los grupos O-carbamilato y N-carbamilato.

Un enlace carbamato describe un enlace $-O-C(=O)-NR'$, donde R' es como se describe en la presente memoria.

Un grupo "O-tiocarbamilato" se refiere a un grupo $-OC(=S)-NR'R''$, donde cada uno de los R' y R'' es como se define en la presente memoria.

25 Un grupo "N-tiocarbamilato" se refiere a un grupo $R'OC(=S)-NR''$, donde cada uno de los R' y R'' es como se define en la presente memoria.

Un grupo "tiocarbamilato" o "tiocarbamato" engloba a los grupos O-tiocarbamilato y N-tiocarbamilato.

Un enlace tiocarbamato describe un enlace $-O-C(=S)-NR'$, donde R' es como se describe en la presente memoria.

Un grupo "C-amido" se refiere a un grupo $-C(=O)-NR'R''$, donde cada uno de los R' y R'' es como se define en la presente memoria.

30 Un grupo "N-amido" se refiere a un grupo $R'C(=O)-NR''$, donde cada uno de los R' y R'' es como se define en la presente memoria.

Un grupo "amida" engloba a los grupos C-amido y N-amido.

Un enlace amida describe un enlace $-NR'-C(=O)-$, donde R' es como se define en la presente memoria.

35 Un grupo "urea" se refiere a un grupo $-NR'-C(=O)-NR''R'''$ donde cada uno de los R' y R'' es como se define en la presente memoria, y R''' se define como R' y R'' se definen en la presente memoria.

Un grupo "nitro" se refiere a un grupo $-NO_2$.

Un grupo "ciano" se refiere a un grupo $-C\equiv N$.

El término "hidracina" describe un grupo $-N(R')-N(R'')R'''$, con cada uno de los R', R'' y R''' como se define anteriormente en la presente memoria.

40

Tratamiento de Enfermedades Autoinmunes:

Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención cualquiera de los compuestos como se describen en la presente memoria es para el empleo en el tratamiento de una enfermedad autoinmune en un sujeto que necesita del mismo.

- 5 Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención cualquiera de los compuestos como se describen en la presente memoria es para usar en la producción de un medicamento para tratar una enfermedad autoinmune en un sujeto que necesita del mismo.

10 En la presente memoria se divulga un método para tratar una enfermedad autoinmune, que se efectúa mediante la administración al sujeto de una cantidad eficaz terapéuticamente de cualquiera de los compuestos como se describen en la presente memoria.

15 Como se emplea en el contexto de este aspecto de las presentes realizaciones, la frase “tratar” se refiere a inhibir o detener el desarrollo de la enfermedad autoinmune (por ejemplo, esclerosis múltiple) y/o causar la reducción, remisión o regresión de la enfermedad autoinmune y/o opcionalmente curar la enfermedad autoinmune. Los expertos en la técnica entenderán que se pueden emplear varias metodologías y ensayos para evaluar el desarrollo de la enfermedad autoinmune, y de manera similar, se pueden emplear varias metodologías y ensayos para evaluar la reducción, remisión o regresión de la enfermedad autoinmune.

Como se emplea en la presente memoria, el término “sujeto” incluye a mamíferos, preferiblemente a seres humanos de cualquier edad que padezca de la patología (la enfermedad autoinmune) o que se le haya diagnosticado de estar afectado por la enfermedad.

20 Según algunas realizaciones de la invención, el término “sujeto” engloba a individuos que están en riesgo de desarrollar la patología o que son sospechosos de tener la patología. Como se emplea en la presente memoria la frase “enfermedad autoinmune” se refiere a cualquier enfermedad causada por una respuesta autoinmune, *es decir*, una respuesta inmune dirigida a una sustancia en el cuerpo del sujeto.

25 Cabe señalar que ya que la enfermedad autoinmune puede afectar a cualquier órgano o tejido del sujeto, por ejemplo, el cerebro, piel, riñón, pulmones, hígado, corazón, o tiroides del sujeto, la expresión clínica de la enfermedad depende del sitio afectado.

A continuación una lista no limitante de enfermedades o trastornos autoinmunes (incluyendo a enfermedades o trastornos relacionados con el sistema autoinmune) que se pueden tratar con el compuesto de algunas realizaciones de la invención: Encefalomiелitis Aguda Diseminada (EAD); Leucoencefalitis hemorrágica necrotizante aguda; Enfermedad de Addison; Agammaglobulinemia; Alopecia areata; Amiloidosis; Espondilitis anquilosante; Nefritis antiGBM/AntiTBM; Síndrome antifosfolípidos (SAFL); Angioedema autoinmune; Anemia aplásica autoinmune; Disautonomía autoinmune; Hepatitis autoinmune; Hiperlipidemia autoinmune; Inmunodeficiencia autoinmune; Enfermedad autoinmune del oído interno (EAOL); Miocarditis autoinmune; Pancreatitis autoinmune; Retinopatía autoinmune; Púrpura trombocitopénica autoinmune (PTI); Enfermedad tiroidea autoinmune; Urticaria autoinmune; Neuropatías axonal y neuronal; Enfermedad de Baló; Enfermedad de Behcet; Penfigoide bulloso; Cardiomiopatía; Enfermedad de Castleman; Enfermedad celíaca; Enfermedad de Chagas; Polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PDIC); Osteomielitis crónica multifocal recurrente (CRMO, de sus siglas en inglés); Síndrome de Churg-Strauss; Penfigoide cicatricial/penfigoide mucosal benigno; Enfermedad de Crohn; Síndrome de Cogan; Enfermedad de aglutininas frías; Bloqueo cardíaco congénito; Miocarditis de Coxsackie; enfermedad de CREST; Crioglobulinemia mixta esencial; Neuropatías desmielinizantes; Dermatitis herpetiforme; Dermatomiositis; Enfermedad de Devic (neuromielitis óptica); Lupus discoides; Síndrome de Dressler; Endometriosis; Fascitis eosinofílica; Eritema nodoso; Encefalomiелitis alérgica Experimental; Síndrome Evans; Alveolitis fibrosante; Arteritis de células gigantes (arteritis temporal); Glomerulonefritis; Síndrome de Goodpasture; Granulomatosis con poliangitis (véase granulomatosis de Wegener, GPA); Enfermedad de Graves; Síndrome de Guillain-Barre; Encefalitis de Hashimoto; Tiroiditis de Hashimoto; Anemia hemolítica; Púrpura de Henoch-Schonlein; Herpes gestationis; Hipogammaglobulinemia; Púrpura trombocitopénica idiopática (PTI); nefropatía IgA; Enfermedad de esclerosis relacionada a IgG4; Lipoproteínas inmunoreguladoras; Miositis con cuerpos de inclusión; Diabetes dependiente de insulina (tipo 1); Cistitis intersticial; Artritis juvenil; Diabetes juvenil; Síndrome de Kawasaki; Síndrome de Lambert-Eaton; Vasculitis leucocitoclástica; Liquen plano; Liquen escleroso; Conjuntivitis lígnea; Enfermedad IgA lineal (LAD); Lupus (SLE), Enfermedad de Lyme crónica; Enfermedad de Meniere; Poliangeítis microscópica; Enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC); Úlcera de Mooren; Enfermedad de Mucha-Habermann; Esclerosis múltiple; Miastenia gravis; Miositis; Narcolepsia; Neuromielitis óptica (Enfermedad de Devic); Neutropenia; Penfigoide citatrizal óptica; Neuritis óptica; Reumatismo palindrómico; Síndrome PANDAS (Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcus); Degeneración cerebelosa paraneoplásica; Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN); Síndrome de Parry Romberg; Síndrome de Parsonage-Turner; Pars planitis (uveítis periférica); Pénfigo; Neuropatía periférica; Encefalomiелitis perivenosa; Anemia perniciosa; Síndrome de POEMS; Poliarteritis nodosa; Síndromes poliglandulares autoinmunes Tipo I, II y III; Polimialgia reumática; Polimiositis; Síndrome de infarto postmiocardiaco; Síndrome postpericardiotomía; Dermatitis por progesterona; Cirrosis biliar primaria; Colangitis esclerosante primaria; Psoriasis; Artritis psoriásica; Fibrosis pulmonar idiopática; Pioderma gangrenoso; Aplasia pura

de células rojas; Fenómeno de Raynaud; Distrofia simpática refleja; Síndrome de Reiter; Policondritis recidivante; Síndrome de las piernas inquietas; Fibrosis retroperitoneal; Fiebre reumática; Artritis reumatoide; Sarcoidosis; Síndrome de Schmidt; Escleroderma; Síndrome de Sjogren; Autoinmunidad de esperma y testicular; Síndrome de la persona rígida; Endocarditis bacteriana subaguda (SBE); Síndrome de Susac; Oftalmia simpática; Arteritis de Takayasu; Arteritis temporal/arteritis de células gigantes; Púrpura trombocitopénica (PTI); Síndrome de Tolosa-Hunt; Mielitis transversa; Colitis ulcerosa; Enfermedad indiferenciada del tejido conectivo (EITC); Uveítis; Vasculitis; Dermatitis vesiculobulosa; Vitiligo; Granulomatosis de Wegener (ahora denominada Granulomatosis con poliangitis (GPA).

Según algunas realizaciones de la invención, la enfermedad autoinmune es la esclerosis múltiple.

- 10 Según algunas realizaciones de la invención, el sujeto es diagnosticado con esclerosis múltiple.

El diagnóstico de “esclerosis múltiple” se puede realizar cuando un sujeto ha experimentado al menos un ataque neurológico que afecta al sistema nervioso central (SNC) acompañado por lesiones desmielinizantes dentro del cerebro o la médula espinal, que puede estar confirmado, pero no que necesariamente, mediante imagen por resonancia magnética (IRM). El ataque neurológico puede implicar sintomatología (ataque) aguda o sub-aguda manifestada mediante varias presentaciones clínicas como pérdida de visión unilateral, vértigo, ataxia, incoordinación, dificultades para andar, deterioro sensorial caracterizado por parestesia, disestesia, pérdida sensorial, alteraciones urinarias hasta el punto de incontinencia, diplopía, disartria, varios grados de debilidad motora hasta el punto de parálisis, deterioro cognitivo bien monosintomático o en combinación. Los síntomas normalmente se mantienen durante varios días hasta pocas semanas, y después se resuelven parcial o completamente.

- 15 20 Se proporcionan otros detalles del diagnóstico de la esclerosis múltiple según el 2010 Criterio de Diagnóstico McDonald de EM en Polman CH., et al., 2011 (“Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria” Annals of Neurology, vol. 69 (2): páginas 292-302) que se incorporan por completo en la presente memoria en referencia a su totalidad.

- 25 Por ejemplo, el diagnóstico de la esclerosis múltiple se puede realizar en (I): Presentación clínica de ≥ 2 ataques, con evidencia clínica objetiva de ≥ 2 lesiones o evidencia clínica objetiva de 1 lesión con evidencia histórica razonable de un ataque previo; (II) Presentación clínica de ≥ 2 ataques, con evidencia clínica objetiva de 1 lesión, los datos adicionales tienen que incluir diseminación en la zona, demostrada mediante: ≥ 1 T2 lesión en al menos 2 de 4 regiones típicas de EM del SNC (región periventricular, juxtacortical, infratentorial, o de la médula espinal); (III) Presentación clínica de 1 ataque, con evidencia clínica objetiva de ≥ 2 lesiones, los datos adicionales tienen que incluir diseminación en el tiempo, demostrada mediante: Presencia simultánea de un aumento del contraste de gadolinio asintomático y sin mejoras de las lesiones al mismo tiempo; o una nueva T2 y/o aumento del contraste de gadolinio en las lesiones en el seguimiento por IRM, independientemente de su momento con respecto al escáner de referencia; (IV) Presentación clínica de 1 ataque, los datos adicionales tienen que incluir diseminación en el tiempo, demostrada mediante: para DIS: ≥ 1 T2 lesión en al menos 2 de 4 regiones típicas de EM (región periventricular, juxtacortical, infratentorial, o de la médula espinal) y para DIT: Presencia simultánea de un aumento del contraste de gadolinio asintomático y sin mejoras de las lesiones al mismo tiempo; o una nueva T2 y/o aumento del contraste de gadolinio en las lesiones en el seguimiento por IRM, independientemente de su momento con respecto al escáner de referencia; (V) Presentación clínica de progresión clínica insidiosa indicativo de EM (EMPP), datos adicionales tienen que incluir 1 año de progresión de la enfermedad (determinada retrospectiva o prospectivamente) más 2 de 3 de los siguientes criterios: 1. Evidencia de DIS en el cerebro basado en ≥ 1 T2 lesiones en regiones características de EM (región periventricular, juxtacortical, infratentorial). 2. Evidencia para DIS en la médula espinal en lesiones T2 ≥ 2 en la médula. 3. CSF (evidencia de isoelectroenfoco de bandas oligoclonales y/o índice de IgG elevado) positivo.

Según algunas realizaciones de la invención, el sujeto tiene esclerosis múltiple remitente y recurrente (EMRR).

Según algunas realizaciones de la invención, el sujeto tiene esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP).

- 45 Según algunas realizaciones de la invención, el sujeto tiene EM progresiva secundaria (EMPS).

Según algunas realizaciones de la invención, el sujeto tiene esclerosis múltiple benigna (EMB).

Según algunas realizaciones de la invención, el sujeto tiene una EM progresiva con recaídas.

Según algunas realizaciones de la invención, tratar el sujeto se refiere a cambiar el transcurso de la enfermedad del sujeto desde una EMRR a una EMB.

- 50 Según algunas realizaciones de la invención, tratar el sujeto se refiere a suprimir la actividad del transcurso de la EMRR típica.

Según algunas realizaciones de la invención, la administración del compuesto se realiza después de diagnosticar al sujeto de que tiene la enfermedad autoinmune.

Según algunas realizaciones de la invención, la enfermedad autoinmune es la esclerosis múltiple y el diagnóstico comprende la aparición de lesiones cerebrales características de la esclerosis múltiple.

5 Según algunas realizaciones de la invención, el compuesto previene de la aparición de un ataque o ataques neurológicos adicionales y/o de una lesión o lesiones cerebrales en comparación con el número de ataques neurológicos y/o de lesiones cerebrales que se presentan en el momento de diagnosticar la esclerosis múltiple.

10 Según un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención los compuestos como se describen en la presente memoria, en cualquiera de las realizaciones de las mismas, son útiles para inhibir una actividad de la ARN Polimerasa I, o para modular una ruta de la ARN Polimerasa I. Estos compuestos son, por lo tanto, útiles en el tratamiento de cualquier enfermedad o trastorno que se asocie con la ARN Polimerasa I o que sea tratable mediante modulación (por ejemplo, inhibición), de la actividad o ruta de una ARN Polimerasa I, como se describe en más detalle a continuación en la presente memoria.

Dichas enfermedades y trastornos incluyen también, además de las enfermedades autoinmunes como las descritas en la presente memoria, enfermedades o trastornos proliferativo, como se describen en la presente memoria, y cualquier otra afección médica que será reconocida por cualquier experto en la técnica.

15 *Tratamiento de enfermedades o trastornos proliferativos:*

Según algunas realizaciones de la invención, cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria son útiles para tratar una enfermedad o trastorno proliferativo y/o para modular (por ejemplo, inhibir) una actividad proteína quinasa.

20 Como se emplea en la presente memoria la frase "enfermedad proliferativa" se refiere a enfermedades que se manifiestan por una proliferación celular anormal, e incluye, por ejemplo, tumores benignos, tumores pre-malignos, y tumores malignos, tales como el cáncer.

25 Como se emplea en la presente memoria los términos "cáncer" y "tumor maligno" se emplean de manera intercambiable. El término se refiere a un crecimiento maligno o tumor causado por una proliferación celular (división celular) incontrolada. Ejemplos de cánceres incluyen, sin limitación, cánceres del colon y el recto, de mama, pulmón, hígado, páncreas, ganglio linfático, colon, próstata, cerebro, cabeza y cuello, piel, hígado, riñón, sangre y corazón (por ejemplo, leucemia, linfoma, carcinoma).

Los términos "tratar" y "tratamiento" como se emplean en la presente memoria se refieren a mejorar, aliviar, reducir, y eliminar síntomas de una enfermedad o afección.

30 En algunas realizaciones, "tratar" se realiza mediante un compuesto como el descrito en la presente memoria, que, cuando se administra aun sujeto que necesita del mismo, muestra un efecto biológico tal como apoptosis de determinadas células (por ejemplo, células cancerosas), reducción de la proliferación de determinadas células, o conduce a mejorar, aliviar, reducir, o eliminar síntomas de una enfermedad o afección. Los términos "tratar" y "tratamiento" como se emplean en la presente memoria en algunas realizaciones, se pueden referir también a reducir o detener una tasa de proliferación celular (por ejemplo, enlentecer o detener el crecimiento del tumor) o reducir el número de células cancerosas proliferantes (por ejemplo, eliminando parte o todo el tumor). Los términos "tratar" y "tratamiento" como se emplean en la presente memoria son también aplicables a reducir un título de un microorganismo en un sistema (es decir, célula, tejido, o sujeto) infectado con un microorganismo, reducir la tasa de propagación microbiana, reducir el número de síntomas o un efecto de un síntoma asociado con la infección microbiana, y/o eliminar cantidades detectables del microbio del sistema. Ejemplos del microorganismo incluyen pero no se limitan a, virus, bacterias y hongos.

45 Como se emplea en la presente memoria, el término "apoptosis" se refiere a una autodestrucción celular intrínseca o programa suicida. En respuesta a un estímulo desencadenante, las células se someten a una cascada de acontecimientos que incluyen reducción celular, protuberancias de membranas celulares y condensación y fragmentación cromática. Estos acontecimientos culminan en la conversión celular a grupos de partículas unidas a membrana (cuerpos apoptóticos), que después son envueltos por macrófagos.

50 En la presente memoria se proporcionan también métodos y usos de cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria, para modular la actividad de una proteína quinasa, que se efectúa poniendo en contacto un sistema que comprende la proteína quinasa con un compuesto como el descrito en la presente memoria en una cantidad eficaz para modular (por ejemplo, inhibir) la actividad de la quinasa. El sistema en tales realizaciones puede ser un sistema sin células o un sistema que comprende células. Se proporcionan también métodos y usos que utilizan los compuestos descritos en la presente memoria para reducir la proliferación celular, y opcionalmente para inducir apoptosis, que se efectúan poniendo en contacto células con un compuesto como el descrito en la presente memoria en una cantidad eficaz para reducir la proliferación de las células. Las células en tales realizaciones pueden ser una línea celular, en un tejido o en un sujeto (por ejemplo, un animal de investigación o ser humano).

55 Las proteínas quinasas son una familia de enzimas que catalizan la transferencia de un fosfato gamma desde una adenosina trifosfato hasta un aminoácido de serina o treonina (serina/treonina proteína quinasa), aminoácido de

- 5 tirosina (tirosina proteína quinasa), tirosina, serina o treonina (proteína quinasa con especificidad dual) o aminoácido de histidina (histidina proteína quinasa) en un sustrato peptídico o proteico. Por tanto, en la presente memoria se incluyen métodos y usos que se realizan mediante la puesta en contacto de un sistema que comprende una proteína quinasa con un compuesto como se describe en la presente memoria en una cantidad eficaz para modular (por ejemplo, inhibir) la actividad de la quinasa. En algunas realizaciones, la actividad de la proteína quinasa es la actividad catalítica de la proteína (por ejemplo, catalizar la transferencia de un fosfato gamma desde una adenosina trifosfato hasta un sustrato peptídico o proteico). Los sistemas en tales realizaciones pueden ser un sistema sin células o un sistema que comprende células (por ejemplo, in vitro).
- 10 En algunas realizaciones, la proteína quinasa es una proteína quinasa serina-treonina o una tirosina proteína quinasa. En algunas realizaciones, la proteína quinasa es un fragmento de una proteína quinasa que tiene actividad de unión al compuesto.
- En algunas realizaciones, la proteína quinasa es, o contiene una subunidad (por ejemplo, subunidad catalítica, dominio SH2, dominio SH3) de, CK2, subfamilia Pim de proteína quinasa (por ejemplo, PIM1, PIM2, PIM3) o la subfamilia Flt proteína quinasa (por ejemplo, FLT1, FLT3, FLT4).
- 15 En algunas realizaciones la proteína quinasa es una proteína recombinante. La proteína quinasa puede ser de cualquier fuente, tal como células de mamíferos, mono o ser humano, por ejemplo. En algunas realizaciones, la proteína quinasa es una proteína quinasa humana.
- 20 En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos que se describen en la presente memoria es útil también en el tratamiento de una afección relacionada con inflamación o dolor. Afecciones asociadas con inflamación y dolor incluyen sin limitación, reflujo ácido, acidez, acné, alergias y sensibilidades, enfermedad de Alzheimer, asma, aterosclerosis, bronquitis, carditis, enfermedad celíaca, dolor crónico, enfermedad de Crohn, cirrosis, colitis, demencia, dermatitis, diabetes, ojos secos, enfisema, eccema, fibromialgia, gastroenteritis, gingivitis, enfermedad cardíaca, hepatitis, hipertensión, resistencia a insulina, cistitis intersticial, dolor articular/artritis/artritis reumatoide, síndrome metabólico (síndrome X) miositis, nefritis, obesidad, osteopenia, osteoporosis, enfermedad de Parkinson,
- 25 enfermedad periodontal, poliarteritis, policondritis, psoriasis, escleroderma, sinusitis, síndrome de Sjogren, colon espástico, candidiasis sistémica, tendinitis, infecciones del tracto urinario, vaginitis, cáncer inflamatorio (por ejemplo, cáncer de mama inflamatorio) y similares.
- En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos que se describen en la presente memoria es útil también para modular la angiogénesis en un sujeto, y para tratar una afección asociada con la angiogénesis anómala en un sujeto.
- 30 *Composiciones farmacéuticas:*
- En cualquiera de los métodos y usos descritos en la presente memoria, y en cualquiera de las realizaciones de los mismos, se puede administrar un compuesto descrito en la presente memoria a un sujeto *per sé*, o en una composición farmacéutica donde se mezcla con vehículos o excipientes adecuados.
- 35 Como se emplea en la presente memoria una "composición farmacéutica" se refiere a una preparación de uno o más de los ingredientes activos descritos en la presente memoria con otros componentes químicos tales como vehículos o excipientes adecuados. El propósito de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto en un organismo.
- 40 En la presente memoria el término "ingrediente activo" se refiere al compuesto de alguna de las realizaciones de la invención responsable del efecto biológico.
- De aquí en lo sucesivo, las frases "vehículo aceptable fisiológicamente" y "vehículo aceptable farmacéuticamente" que se pueden emplear de manera intercambiable se refieren a un vehículo o a un diluyente que no causa una irritación significativa en un organismo y que no impide la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado. Un adyuvante se incluye bajo estas frases.
- 45 En la presente memoria el término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar además la administración de un ingrediente activo. Ejemplos, sin limitación, de excipientes incluyen carbonato cálcico, fosfato cálcico, varios azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.
- Se pueden encontrar técnicas para la formulación y administración de fármacos en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición, que se incorpora por referencia en la presente memoria.
- 50 Rutas de administración adecuadas pueden incluir, por ejemplo, la administración oral, rectal, transmucosa, especialmente el suministro transnasal, intestinal o parenteral, que incluye las inyecciones intramuscular, subcutánea e intramedular, así como la intratecal, intraventricular directa, intracárdica, por ejemplo, en la cavidad ventricular derecha o izquierda, en la arteria coronaria frecuente, inyección intravenosa, intraperitoneal, intranasal, o intraocular.
- 55

Según algunas realizaciones de la invención, el compuesto se administra mediante administración oral.

Propuestas convencionales para el suministro de fármacos al sistema nervioso central (SNC) incluyen: estrategias neuroquirúrgicas (por ejemplo, inyección intracerebral o infusión intracerebroventricular); estrategias farmacológicas diseñadas para incrementar la solubilidad lipídica de un agente (por ejemplo, conjugación de agentes solubles en agua con lípidos o vehículos de colesterol); y la alteración transitoria de la integridad de la BBB mediante alteración hiperosmótica (que resulta de la infusión de una disolución de manitol en la arteria carótida o el empleo de un agente activo biológicamente, tal como un péptido de angiotensina). Sin embargo, cada una de estas estrategias tiene limitaciones, tal como los riesgos inherentes asociados a un procedimiento quirúrgico invasivo, una limitación de tamaño impuesta por una limitación inherente en los sistemas de transporte endógeno, efectos secundarios biológicos potencialmente no deseables asociados a la administración sistémica de una molécula química que comprende un vehículo que se podría activar fuera del SNC, y el posible riesgo de daño cerebral dentro de regiones del cerebro donde se altera la BBB, lo que le convierte en un método de suministro ineficiente.

Alternativamente, la composición farmacéutica podría administrarse de una manera local en lugar de una manera sistémica, por ejemplo, mediante inyección de la composición farmacéutica directamente en una región tisular de un paciente.

El término “tejido” se refiere a una parte de un organismo que consiste en células diseñadas para realizar una función o funciones. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, tejido cerebral, retina, tejido cutáneo, tejido hepático, tejido pancreático, hueso, cartílago, tejido conectivo, sangre, tejido muscular, tejido cardíaco, tejido cerebral, tejido vascular, tejido renal, tejido pulmonar, tejido gonadal, tejido hematopoyético.

Composiciones farmacéuticas de algunas realizaciones de la invención se pueden producir mediante procesos convencionales bien conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante medios de mezclado, disolución, granulación, grageado, levigación, emulsión, encapsulación, oclusión o liofilización.

Las composiciones farmacéuticas para emplear de acuerdo con algunas realizaciones de la invención se pueden formular, por tanto, de manera convencional empleando uno o más vehículos aceptables fisiológicamente que comprende excipientes y adyuvantes, que facilitan el procesamiento de los ingredientes activos en preparaciones que, se pueden emplear farmacéuticamente. La formulación adecuada es dependiente de la vía de administración elegida.

Para inyección, los ingredientes activos de la composición farmacéutica se pueden formular en disoluciones acuosas, preferiblemente en tampones compatibles fisiológicamente tal como disolución de Hank, disolución Ringer, o tampón de la sal fisiológica. Para administración transmucosa, se emplean penetrantes adecuados para permear la barrera. Tales penetrantes se conocen generalmente en la técnica.

Para administración oral, la composición farmacéutica se puede formular fácilmente mediante combinación de compuestos activos con vehículos aceptables farmacéuticamente bien conocidos en la técnica. Tales vehículos permiten formular la composición como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, semilíquidos, suspensiones, y similares, para ingestión oral por un paciente. Se pueden producir preparaciones farmacológicas para uso oral empleando un excipiente sólido, triturando opcionalmente la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, añadiendo después adyuvantes adecuados si se desea, para obtener comprimidos o grageas. Excipientes adecuados son, en particular, rellenos tales como azúcares, que incluyen lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol; preparaciones de celulosa tal como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetil-celulosa, carbometilcelulosa sódica; y/o polímeros aceptables fisiológicamente tales como polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden añadir agentes desintegrantes, tales como polivinil pirrolidona reticulada, agar, o ácido alginico o una sal del mismo, tal como alginato sódico.

Los núcleos de las grageas se proporcionan con recubrimientos adecuados. Para este propósito, se pueden emplear disoluciones de azúcar concentradas que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinil pirrolidona, carbopol en gel, polietilenglicol, dióxido de titanio, disoluciones de laca y disolventes orgánicos o mezclas de disolvente adecuados. A los recubrimientos de los comprimidos o grageas se pueden añadir colorantes o pigmentos para la identificación o caracterización de diferentes combinaciones de dosis del compuesto activo.

Composiciones farmacéuticas que se pueden emplear de manera oral, incluyen cápsulas duras fabricadas de gelatina así como cápsulas blandas, cápsulas selladas fabricadas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden contener los ingredientes activos al mezclarse con el relleno tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones, lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente estabilizadores. En cápsulas blandas, los ingredientes activos se pueden disolver o suspender en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida, o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden añadir estabilizadores. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en dosificaciones adecuadas para la vía de administración elegida.

Para administración bucal, las composiciones pueden tomar forma de comprimidos o pastillas formuladas de manera convencional.

Para administración por inhalación nasal, los ingredientes activos para emplear según algunas realizaciones de la invención se suministran convenientemente en forma de una presentación de espray en aerosol desde un envase presurizado o un nebulizador con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano o dióxido de carbono. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede determinar proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Las cápsulas y los cartuchos de, por ejemplo, gelatina, para emplear en un dispensador se pueden formular para que contengan una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

La composición farmacéutica descrita en la presente memoria se puede formular para administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en envases multidosis con opcionalmente, un conservante añadido. Las composiciones pueden ser suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

Composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de la preparación activa en forma soluble en agua. Adicionalmente, las suspensiones de ingredientes activos se pueden preparar como suspensiones de inyección a base de aceite o agua adecuados. Disolventes o vehículos lipofílicos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo, triglicéridos o liposomas. Las suspensiones de inyección acuosa pueden contener sustancias, que aumentan la viscosidad de la suspensión, tal como carboximetil celulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también estabilizantes o agentes que incrementan la solubilidad de los ingredientes activos para facilitar la preparación de disoluciones altamente concentradas.

Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para la reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, una disolución a base de agua estéril, apirógena, antes de su uso.

La composición farmacéutica de algunas realizaciones de la invención se puede formular también en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, empleando, por ejemplo, bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Composiciones farmacéuticas adecuadas para usar en el contexto de algunas realizaciones de la invención incluyen composiciones en donde los ingredientes activos están contenidos en una cantidad eficaz para conseguir el propósito de interés. Más específicamente, una cantidad eficaz terapéuticamente significa una cantidad de ingredientes activos (el compuesto de algunas realizaciones de la invención) eficaz para prevenir, aliviar o mejorar síntomas de un trastorno (por ejemplo, una enfermedad autoinmune tal como la esclerosis múltiple) o prolongar la supervivencia del sujeto que se está tratando.

La determinación de una cantidad eficaz terapéuticamente es bien conocida dentro de la capacidad de los expertos en la técnica, especialmente a la luz de la divulgación detallada proporcionada en la presente memoria.

Para cualquier preparación empleada en los métodos de la invención, la cantidad o dosis eficaz terapéuticamente se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular e in vitro. Por ejemplo, una dosis se puede formular en modelos animales para conseguir una concentración o título deseado. Tal información se puede emplear para determinar con más exactitud dosis útiles en seres humanos.

Se puede determinar la toxicidad y la eficacia terapéutica de los ingredientes activos descritos en la presente memoria mediante procedimientos farmacéuticos estándar in vitro, en cultivos celulares o animales de experimentación. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivos celulares e in vitro y en animales de experimentación se pueden emplear en la formulación de un intervalo de dosificación para el uso en seres humanos. La dosis puede variar dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada. La formulación exacta, vía de administración y dosis se pueden elegir por el médico particular en vista de la afección del paciente. (Véase por ejemplo, Fingl, et al., 1975, en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Ch. 1 p.1).

La cantidad y el intervalo de dosificación se pueden ajustar de manera individual para proporcionar niveles tisulares o sanguíneos del ingrediente activo que sean suficientes para inducir o suprimir el efecto biológico (concentración eficaz mínima, CEM). La CEM variará para cada preparación, pero se puede estimar a partir de los datos in vitro. Las dosis necesarias para conseguir la CEM dependerán de las características individuales y de la vía de administración. Los ensayos de detección se pueden emplear para determinar las concentraciones plasmáticas.

Las dosis mostradas en la presente memoria con respecto al modelo animal murino se pueden adaptar para el tratamiento de otras especies, tal como seres humanos y otros animales diagnosticados con la enfermedad autoinmune. La Figura 11 muestra una Tabla de conversión aceptada en la técnica aprobada por la FDA (Reagan-Shaw S., et al., FASEB J. 22:659-661 (2007)).

La dosis equivalente humana (HED, de sus siglas en inglés) se calcula como sigue: $HED \text{ (mg/kg)} = \text{Dosis animal (mg/kg)} \text{ multiplicado por } (K_m \text{ animal} / K_m \text{ humana})$.

Según algunas realizaciones de la invención, se proporciona el compuesto en una cantidad equivalente para un intervalo de aproximadamente 3 – 30 mg/kg/día en ratones, incluyendo cualquier subintervalo y valor intermedio entre ellos.

- 5 Dependiendo de la gravedad y de la capacidad de respuesta de la afección a tratar, la dosificación puede ser en una dosis única o en una pluralidad de administraciones, con un transcurso del tratamiento que dura de varios días a varias semanas o hasta que se consiga la curación o se logre la disminución del estado patológico.

La cantidad de una composición a administrar dependerá, por supuesto, del sujeto que se esté tratando, de la gravedad de la afección, de la forma de administración, del juicio del médico prescriptor, etc.

- 10 Las composiciones de algunas realizaciones de la invención pueden presentarse, si se desea, en un envase o dispositivo dispensador, tal como un kit aprobado por la FDA, que puede contener uno o más formas de dosificación unitaria que contienen el ingrediente activo. El envase puede comprender, por ejemplo, una hoja de metal o plástico, tal como un envase blíster. El envase o dispositivo dispensador se puede acompañar por las instrucciones de administración. El envase o dispensador puede alojar también una información asociada con el envase en una forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso y venta de los productos farmacéuticos, cuya información refleja la aprobación por la agencia de la forma de las composiciones para administración humana o veterinaria. Tal información puede estar, por ejemplo, en el etiquetado o en el prospecto del producto aprobado por la agencia de Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. para la prescripción de fármacos. Las composiciones que comprenden una preparación de la invención formulada en un vehículo farmacéutico compatible se pueden preparar también situadas en un envase adecuado, e identificado para el tratamiento de una afección indicada, como se detalla en la presente memoria.

Control de la eficacia del tratamiento:

- 25 Las enseñanzas de la invención se pueden emplear también para determinar la eficacia del compuesto en algunas realizaciones de la invención para tratar la enfermedad autoinmune (por ejemplo, esclerosis múltiple) mediante la determinación del efecto del compuesto en el nivel de expresión de al menos un gen de la ruta de la ARN polimerasa I. Esto se puede emplear para desarrollar un tratamiento a medida de una enfermedad autoinmune mediante el control de la eficacia del fármaco. Este sistema se basa en medir el nivel de los genes de la ruta de la ARN polimerasa I durante el tratamiento con el compuesto y la capacidad para realizar un ajuste continuado del ensayo de eficacia del fármaco.

- 30 Por tanto, en la presente memoria se divulga un método de control de la eficacia del tratamiento del compuesto de algunas realizaciones de la invención, el método comprende:

- (a) tratar al sujeto con el compuesto según el método de algunas realizaciones de la invención, y
- (b) comparar un nivel de expresión de al menos un gen implicado en la ruta de la ARN polimerasa I en una célula del sujeto después de tratar con el compuesto hasta un nivel de expresión de al menos un gen en una célula del sujeto antes de tratar al sujeto con el compuesto,
- 35 (i) en donde un descenso en el nivel de expresión anterior predeterminado del triple de al menos un gen después de tratar con el compuesto relacionado con el nivel de expresión de al menos un gen antes de tratar con el compuesto indica que el compuesto es eficaz para tratar al sujeto;
- (ii) en donde un aumento en el nivel de expresión anterior predeterminado del triple de al menos un gen después de tratar con el compuesto relacionado con el nivel de expresión de al menos un gen antes de tratar con el compuesto indica que el compuesto no es eficaz para tratar al sujeto; o
- 40 (iii) en donde cuando un nivel de expresión de al menos un gen después de tratar con el compuesto es idéntico o varía por debajo del triple predeterminado en comparación a antes de tratar con el compuesto, entonces, el tratamiento no es eficaz para tratar al sujeto; controlando de esta manera la eficacia del tratamiento del sujeto que tiene la enfermedad o trastorno como se describe en la presente memoria.

- 45 Como se emplea en la presente memoria, la frase “nivel de expresión” se refiere al grado de expresión genético y/o actividad del producto genético en una célula específica. Por ejemplo, la regulación al alza o la regulación a la baja de varios genes puede afectar al nivel del producto genético (es decir, ARN y/o proteína) en una célula específica.

- 50 Cabe señalar que el nivel de expresión se puede determinar en unidades absolutas arbitrarias, o en unidades normalizadas (relativas a niveles de expresión conocidos de una referencia control). Por ejemplo, cuando se emplean chips de ADN, los niveles de expresión se normalizan según los controles internos de los chips o por el uso del cuantil de normalización tal como RMA.

Como se emplea en la presente memoria, “una célula del sujeto” se refiere a al menos una célula (por ejemplo, una célula aislada), cultivo celular, contenido celular y/o contenido celular secretado que contiene ARN y/o proteínas del sujeto. Ejemplos incluyen una célula sanguínea, una célula obtenida a partir de cualquier biopsia tisular [por ejemplo,

fluido cerebroespinal (CSF), biopsia cerebral], una célula de la médula ósea, fluidos corporales tales como plasma, suero, saliva, fluido espinal, fluido linfático, secciones externas de la piel, tracto respiratorio, intestinal y genitourinario, lágrimas, saliva, esputo y leche. Según una realización de la invención, la célula es una célula sanguínea (por ejemplo, glóbulos blancos, macrófagos, linfocitos B- y T-, monocitos, neutrófilos, eosinófilos, y basófilos) que se pueden obtener empleando una jeringa con aguja a partir de una vena del sujeto. Cabe señalar que la célula se puede aislar del sujeto (por ejemplo, para detección *in vitro*) o puede comprender opcionalmente una célula que no se ha eliminado físicamente a partir del sujeto (por ejemplo, para detección *in vitro*).

Según algunas realizaciones de la invención, las células sanguíneas comprenden células mononucleares de sangre periférica (CMSP). La frase, "células mononucleares de sangre periférica (CMSPs)" como se emplea en la presente memoria, se refiere a una mezcla de monocitos y linfocitos. En la técnica se conocen varios métodos para aislar glóbulos blancos. Por ejemplo, las CMSPs se puede aislar a partir de muestras de sangre entera empleando procedimientos de centrifugación de gradiente de densidad. Normalmente, la sangre entera anticoagulada se estratifica sobre el medio de separación. Al final de la etapa de centrifugación, las capas siguientes se observan visualmente de arriba abajo: plasma/plaquetas, CMSPs, medio de separación y eritrocitos/granulocitos. La capa de CMSP se elimina después y se lava para eliminar los contaminantes (por ejemplo, glóbulos rojos) antes de determinar el nivel de expresión del polinucleótido o polinucleótidos.

Según algunas realizaciones de la invención, el nivel de expresión del gen o genes de la invención se determina empleando un ARN y/o un método de detección de proteínas.

Según algunas realizaciones de la invención, el ARN o las moléculas de proteína se extraen de la célula del sujeto.

Los métodos de extracción de ARN y moléculas de proteína a partir de las células de un sujeto son bien conocidas en la técnica. Una vez obtenidas, el ARN o las moléculas de proteína se pueden caracterizar por la expresión y/o el nivel de actividad de varios ARN y/o moléculas de proteína empleando métodos conocidos en las técnicas.

Según algunas realizaciones de la invención, la detección del nivel de expresión del ARN de la ruta POL1 se realiza empleando una sonda que hibrida específicamente a un polinucleótido expresado a partir del gen de la ruta POL1 (por ejemplo, incluyendo cualquier forma empalmada que sea bien conocida en la técnica).

Ejemplos no limitantes de métodos para detectar moléculas de ARN en una muestra celular incluyen análisis Northern blot, RT-PCR, hibridación *in situ* de ARN (empleando, por ejemplo, sondas de ADN o ARN para hibridar moléculas de ARN presentes en las secciones celulares o tisulares), RT-PCR *in situ* (por ejemplo, como se describe en Nuovo GJ, et al. Am J Surg Pathol. 1993, 17: 683-90; Komminoth P, et al. Pathol Res Pract. 1994, 190: 1017-25), y microarray de oligonucleótidos (por ejemplo, mediante hibridación de secuencias de polinucleótidos derivados de una muestra para oligonucleótidos unidos a una superficie sólida [(por ejemplo, una lámina de vidrio) con localización direccionable, tal como microarray Affymetrix (Affymetrix®, Santa Clara, CA)].

Por ejemplo, el nivel de RRN3 en una muestra se puede determinar mediante RT-PCR empleando cebadores disponibles en Santa Cruz Biotechnology Inc. (sc-106866-PR), o el Ensayo de Expresión Génica Taqman HS00607907_ml (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.) según la recomendación del fabricante.

Según algunas realizaciones de la invención, la detección del nivel de expresión de la proteína en la ruta POL1 se realiza empleando un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido expresado a partir del gen de la ruta POL1 (por ejemplo, incluyendo cualquiera de las variantes de la misma que se conocen en la técnica).

Ejemplos no limitantes de métodos de detección del nivel y/o la actividad de moléculas de proteína específicas en una muestra celular incluyen el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), análisis Western blot, radioinmunoensayo (RIA), separación celular mediante fluorescencia de células activadas (FACS), análisis inmunohistoquímico, ensayo de actividad *in situ* (empleando por ejemplo, un sustrato cromogénico aplicado en las células que contienen una enzima activa), ensayos de actividad *in vitro* (en el que se mide la actividad de una enzima particular en una mezcla de proteína extraídas a partir de las células). Por ejemplo, en caso de que se desee la detección del nivel de expresión de una proteína secretada, se puede realizar el método ELISA en una muestra de fluido obtenida a partir del sujeto (por ejemplo, suero), el cual contiene el contenido de células secretadas.

Como se describe anteriormente, el nivel de expresión de al menos un gen implicado en la ruta de la ARN polimerasa I en una célula del sujeto después de tratarlo con el compuesto se compara con el nivel de expresión de al menos un gen en una célula del sujeto antes de tratar al sujeto con el compuesto.

Como se emplea en la presente memoria la frase "después de tratar con el compuesto" se refiere a cualquier periodo de tiempo después de administrar el compuesto al sujeto, por ejemplo, desde unos pocos minutos hasta horas, o desde unos pocos días hasta semanas o meses después de la administración del fármaco.

Según algunas realizaciones de la invención el nivel de expresión se determina después de la administración de la primera dosis del compuesto.

Según algunas realizaciones de la invención el nivel de expresión se determina después de la administración de cualquier dosis del compuesto.

5 Como se emplea en la presente memoria la frase “antes de tratar con el compuesto” se refiere a cualquier periodo de tiempo antes de administrar el compuesto al sujeto, por ejemplo, desde unos pocos minutos hasta horas, o desde unos pocos días hasta semanas o meses antes de la administración del fármaco.

Según algunas realizaciones de la invención el nivel de expresión se determina antes de administrar cualquier dosis del compuesto (por ejemplo, cuando el sujeto está sin tratamiento previo).

Según algunas realizaciones de la invención antes de tratar se refiere a cuando al sujeto le diagnostican la enfermedad autoinmune, por ejemplo, esclerosis múltiple.

10 Según algunas realizaciones de la invención antes de tratar se refiere a cuando el sujeto es sospechoso de tener la enfermedad autoinmune (por ejemplo, esclerosis múltiple), o se diagnostica con una probable enfermedad autoinmune (por ejemplo, probable esclerosis múltiple).

Según algunas realizaciones de la invención antes de tratar se refiere al inicio de la enfermedad autoinmune.

15 Según algunas realizaciones de la invención el efecto del tratamiento sobre el sujeto se puede evaluar mediante el control de la expresión de al menos uno de los polinucleótidos descritos anteriormente. Por ejemplo, la regulación a la baja del nivel de RRN3 en el sujeto después del tratamiento puede ser indicativo del efecto positivo del tratamiento sobre el sujeto, por ejemplo, el cambio de una EMRR típica a una esclerosis múltiple de curso a una EMB.

20 Como se describe anteriormente, “un descenso por encima del triple predeterminado” en el nivel de expresión de al menos un gen después de tratar con el compuesto en relación con el nivel de expresión de al menos un gen antes de tratar con el compuesto indica que el compuesto es eficaz para tratar al sujeto.

25 Como se emplea en la presente memoria la frase “un descenso por encima del triple” se refiere al descenso en el nivel de expresión en la célula de un sujeto después de tratar con el compuesto que es mayor al triple predeterminado, tal como aproximadamente 10%, por ejemplo, mayor de aproximadamente 20%, por ejemplo, mayor de aproximadamente 30%, por ejemplo, mayor de aproximadamente 40%, por ejemplo, mayor de aproximadamente 50%, por ejemplo, mayor de aproximadamente 60%, mayor de aproximadamente 70%, mayor de aproximadamente 80%, mayor de aproximadamente 90%, mayor de aproximadamente 2 veces, mayor de aproximadamente tres veces, mayor de aproximadamente cuatro veces, mayor de aproximadamente cinco veces, mayor de aproximadamente seis veces, mayor de aproximadamente siete veces, mayor de aproximadamente ocho veces, mayor de aproximadamente nueve veces, mayor de aproximadamente 20 veces, mayor de aproximadamente 50 veces, mayor de aproximadamente 100 veces, mayor de aproximadamente 200 veces, mayor de aproximadamente 350 veces, mayor de aproximadamente 500 veces, mayor de aproximadamente 1000 veces, o mas en relación al nivel de expresión antes de tratar con el compuesto.

30 Como se describe, un incremento por encima del triple predeterminado en el nivel de expresión de al menos un gen después de tratar con el compuesto en relación con el nivel de expresión de al menos un gen antes de tratar con el compuesto indica que el compuesto no es eficaz para tratar al sujeto.

35 Como se emplea en la presente memoria “un incremento por encima del triple predeterminado” se refiere a un incremento en el nivel de expresión en la célula del sujeto después de tratar con el compuesto, que es mayor al triple predeterminado, tal como aproximadamente 10%, mayor de aproximadamente 20%, por ejemplo, mayor de aproximadamente 30%, por ejemplo, mayor de aproximadamente 40%, por ejemplo, mayor de aproximadamente 50%, por ejemplo, mayor de aproximadamente 60%, mayor de aproximadamente 70%, mayor de aproximadamente 80%, mayor de aproximadamente 90%, mayor de aproximadamente 2 veces, mayor de aproximadamente tres veces, mayor de aproximadamente cuatro veces, mayor de aproximadamente cinco veces, mayor de aproximadamente seis veces, mayor de aproximadamente siete veces, mayor de aproximadamente ocho veces, mayor de aproximadamente nueve veces, mayor de aproximadamente 20 veces, mayor de aproximadamente 50 veces, mayor de aproximadamente 100 veces, mayor de aproximadamente 200 veces, mayor de aproximadamente 350 veces, mayor de aproximadamente 500 veces, mayor de aproximadamente 1000 veces o más, en relación al nivel de expresión antes de tratar con el compuesto.

40 Como se describe, un nivel de expresión de al menos un gen después de tratar con el compuesto que es idéntico o cambia por debajo de un triple predeterminado después en comparación con antes de tratar con el compuesto, es indicativo de que el tratamiento no es eficaz para tratar al sujeto.

45 Como se emplea en la presente memoria la frase “cambia por debajo de un triple predeterminado en comparación con antes de tratar con el compuesto” se refiere a un incremento o un descenso en el nivel de expresión en la célula del sujeto después de tratar con el compuesto, que es inferior al triple predeterminado, tal como inferior a aproximadamente 10 veces, por ejemplo, inferior que aproximadamente 9 veces, por ejemplo, inferior que aproximadamente 8 veces, , por ejemplo, inferior que aproximadamente 7 veces, por ejemplo, inferior que

aproximadamente 6 veces, por ejemplo, inferior que aproximadamente 5 veces, por ejemplo, inferior que aproximadamente 4 veces, por ejemplo, inferior que aproximadamente 3 veces, por ejemplo, inferior que aproximadamente 2 veces, inferior de aproximadamente 90%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 80%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 70%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 60%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 50%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 40%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 30%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 20%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 10%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 9%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 8%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 7%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 6%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 5%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 4%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 3%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 2%, por ejemplo, inferior de aproximadamente 1% en relación al nivel de expresión de al menos un gen antes de tratar con el compuesto.

Ejemplos no limitantes de genes implicados en la ruta ARN polimerasa I que se pueden emplear según el método de la invención incluyen RRN3, LRPPRC, POLR1B, POLR1C, POLR1D, POLR2A, POLR2B, POLR2C, POLR2D, POLR2E, POLR2F, POLR2G, POLR2H, POLR2I, POLR2J, POLR2J2, MGC13098, POLR2K, POLR2L, POLR3B, POLR3CPOLR3D, POLR3E, POLR3F, POLR3G, POLR3K, POLRMT y POLS.

La información de las secuencias respecto a los productos genéticos (*es decir*, transcritos de ARN y secuencias de polipéptidos) de los genes de la ruta de ARN polimerasa I y de sondas que se pueden emplear para la detección de los mismos se pueden encontrar según los siguientes números de acceso:

Affimetrix ProbSet	ID Público Representativo o/ SEQ ID NO:	ID polipeptídico Público Representativo/ SEQ ID NO	Símbolo genético	Título genético
216902_s_at	AF001549/ 40; NM_018427/ 41	NP_060897/81	RRN3	RRN3 ARN Polimerasa factor homólogo de transcripción
211971_s_at	AI653608 / 42; NM_133259/ 43	NP_573566/82	LRPPRC	Motivo PPR rico en leucina
220113_x_at	NM_019014/ 44	NP_0011310076/ 83/NP_061887/120	POLR1B	polipéptido B (ARN) polimerasa I, 128kDa
Affimetrix ProbSet	ID Público Representativo o/ SEQ ID NO:	ID polipeptídico Público Representativo/ SEQ ID NO	Símbolo genético	Título genético
207515_s_at	NM_004875 / 45	NP_976035/84	POLR1C	polipéptido C (ARN) polimerasa I, 30kDa
209317_at	AF008442 / 46	NP_976035/85	POLR1C	polipéptido C(ARN) polimerasa I, 30kDa
218258_at	NM_015972 / 47	NP_057056/86/ NP_689918/121	POLR1D	polipéptido D (ARN) polimerasa I, 16kDa
202725_at	NM_000937 / 48	NP_000928/87	POLR2A	polipéptido A (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 220kDa
217420_s_at	M21610 / 49	NP_000928/88	POLR2A	polipéptido A (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 220kDa
201803_at	NM_000938 / 50	NP_000929/89	POLR2B	polipéptido B (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 140kDa

208996_s_a t	BC000409 / 51	NP_116558/90	POLR2C	polipéptido C (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 33kDa
214263_x_a t	AI192781 / 52	NP_116558/91	POLR2C	polipéptido C (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 33kDa
216282_x_a t	AJ224143 / 53	NP_116558/92	POLR2C	polipéptido C (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 33kDa
203664_s_a t	NM_004805 / 54	NP_004796/93	POLR2D	polipéptido D (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN)
214144_at	BF432147 / 55	NP_004796/94	POLR2D	polipéptido D (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN)
213887_s_a t	AI554759 / 56	NP_002686/95	POLR2E	polipéptido E (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 25kDa
217854_s_a t	BC004441 / 57	NP_002686/96	POLR2E	polipéptido E (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 25kDa
209511_at	BC003582 / 58	NP_068809/97	POLR2F	polipéptido F (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN)
202306_at	NM_002696 / 59	NP_002687/98	POLR2G	polipéptido G (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN)
209302_at	U37689 / 60	NP_006223/99	POLR2H	polipéptido H (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN)
Affimetrix ProbSet	ID Público Representativ o/ SEQ ID NO:	ID polipeptídico Público Representativo/ SEQ ID NO	Símbolo genético	Título genético
212955_s_a t	AL037557 / 61	NP_006224/100	POLR2I	polipéptido I (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 14,5kDa
212782_x_a t	BG335629 / 62	NP_006225/101	POLR2J	polipéptido J (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 13,3kDa
216242_x_a t	AW402635 / 63	NP_116581/102	POLR2J2	polipéptido J relacionado con el gen ARN polimerasa II dirigida a ADN
214740_at	BE676209 / 64	NP_001091084/ 103/NP_006225/ 122/NP_116581/ 125	POLR2J2 /// MCG13098	polipéptido J relacionado con el gen ARN polimerasa II dirigida a ADN /// hipotético
202634_at	AL558030 / 65	NP_005025/104	POLR2K	polipéptido K (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 7,0kDa

202635_s_a t	NM_005034 / 66	NP_005025/105	POLR2K	polipéptido K (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 7,0kDa
202586_at	AA772747 / 67	NP_066951/106	POLR2L	polipéptido L (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 7,6kDa
211730_s_a t	BC005903 / 68	NP_066951/107	POLR2L	polipéptido L (ARN) polimerasa II (dirigida a ADN), 7,6kDa /// (ARN) polimerasa II
219459_at	NM_018082 / 69	NP_001154180/ 108/NP_060552/ 123	POLR3B	polipéptido B (ARN) polimerasa III (dirigida a ADN)
209382_at	U93867 / 70	NP_006459/109	POLR3C	polipéptido C (ARN) polimerasa III (dirigida a ADN) (62 kD)
210573_s_a t	BC004424 / 71	NP_006459/110	POLR3C	polipéptido C (ARN) polimerasa III (dirigida a ADN) (62 kD)
208361_s_a t	NM_001722 / 72	NP_001713/111	POLR3D	polipéptido D (ARN) polimerasa III (dirigida a ADN), 44 kDa
218016_s_a t	NM_018119 / 73	NP_060589/112	POLR3E	polipéptido E (ARN) polimerasa III (dirigida a ADN), (80 kD)
205218_at	NM_006466 / 74	NP_006457/113	POLR3F	polipéptido F (ARN) polimerasa III (dirigida a ADN), 39 kDa
Affimetrix ProbSet	ID Público Representativ o/ SEQ ID NO:	ID polipeptídico Público Representativo/ SEQ ID NO	Símbolo genético	Título genético
206653_at	BF062139 / 75	NP_006458/114	POLR3G	polipéptido G (ARN) polimerasa III (dirigida a ADN), (32 kD)
206654_s_a t	NM_006467 / 76	NP_006458/115	POLR3G	polipéptido G (ARN) polimerasa III (dirigida a ADN), (32 kD)
218866_s_a t	AF060223 / 77	NP_057394/116	POLR3K	polipéptido K (ARN) polimerasa III (dirigida a ADN), 12,3 kDa
203782_s_a t	NM_005035 / 78	NP_005026/117	POLRMT	(ARN) polimerasa mitocondrial (dirigida a ADN)
203783_x_a t	BF057617 / 79	NP_005026/118	POLRMT	(ARN) polimerasa mitocondrial (dirigida a ADN)

202466_at	NM_006999 / 80	NP_001165276/119/NP_001165277/124/ NP_008930/126	PAPD7	Polimerasa sigma (dirigida a ADN)
-----------	----------------	--	-------	-----------------------------------

Según algunas realizaciones de la invención, se selecciona al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 del grupo que consiste en POLRD1D, LRPPRC, RRN3 y NCL.

Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 es RRN3.

5 Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 es LRPPRC.

Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 es POLR1D.

Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 comprende RRN3 y POLR1D.

10 Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 comprende RRN3 y LRPPRC.

Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 comprende POLR1D y LRPPRC.

Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 comprende RRN3, LRPPRC y POLR1D.

15 Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 es RRN3 y NCL.

Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 es LRPPRC y NCL.

20 Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 es POLR1D y NCL.

Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 comprende RRN3, POLR1D y NCL.

Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 comprende RRN3, LRPPRC y NCL.

25 Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 comprende POLR1D, LRPPRC y NCL.

Según algunas realizaciones de la invención, al menos un gen implicado en la ruta ARN polimerasa 1 comprende RRN3, LRPPRC, POLR1D y NCL.

30 La cuantificación del compuesto que es adecuado para tratar la enfermedad autoinmune en el sujeto se puede realizar también mediante un método *in-vitro*.

Como se emplea en la presente memoria el término “aproximadamente” se refiere a $\pm 10\%$.

Los términos “comprende”, “que comprende”, “incluye”, “que incluye”, “que tiene” y sus conjugados significan “que incluyen pero no se limitan a”.

El término “que consiste en” significa “que incluye y se limita a”.

35 El término “que consiste esencialmente en” significa que la composición, método o estructura puede incluir ingredientes, etapas y/o partes adicionales, pero sólo si los ingredientes, etapas y/o partes adicionales no alteran de manera sustancial las características básicas y novedosas de la composición, método o estructura reivindicada.

40 Como se emplea en la presente memoria, la forma singular “un”, “uno” y “el” incluyen las referencias en plural a menos que el contexto lo dicte claramente de otra manera. Por ejemplo, el término “un compuesto” o “al menos un compuesto” puede incluir una pluralidad de compuestos, incluyendo mezclas de los mismos.

A través de esta solicitud, se pueden presentar varias realizaciones de esta invención en un intervalo de formato. Se debe entender que esta descripción en intervalo de formato es simplemente por conveniencia y brevedad y no se deberá considerar como una limitación inflexible en el alcance de la invención. Por consiguiente, la descripción de un intervalo se debe considerar por tener descrito específicamente todos los subintervalos posibles así como los

valores numéricos individuales dentro del intervalo. Por ejemplo, la descripción de un intervalo tal como de 1 a 6 se debe considerar por tener los subintervalos descritos específicamente tal como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como los números individuales dentro de este intervalo, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.

5 Siempre que se indique un intervalo numérico en la presente memoria, significa que incluye cualquier numeración citada (fraccional o integral) dentro del intervalo indicado. Las frases “de alcance/ intervalo entre” el primero indica un número y el segundo indica un número y “de alcance/varia entre” el primero indica un número “hacia” un segundo indica un número, se emplean en la presente memoria de manera intercambiable y significa que incluyen el primer y el segundo número indicados y todos los números fraccionarios e integrales entre ellos.

10 Como se emplea en la presente memoria el término “método” se refiere a las maneras, medios, técnicas y procedimientos para conseguir una función dada, pero no se limita a, las maneras, medios, técnicas y procedimientos ya sean conocidos, o de fácil desarrollo a partir de las maneras, medios, técnicas y procedimientos conocidos, por los practicantes de las técnicas farmacológica, biológica, bioquímica y médica.

15 Se aprecia que determinadas características de la invención, que son, para mayor claridad, descritas en el contexto de realizaciones separadas, se pueden proporcionar también en combinación en una única realización. En cambio, varias realizaciones de la invención, que son, para abreviar, descritas en el contexto de una única realización, se pueden proporcionar también de manera separada o en cualquier subcombinación adecuada o como cualquier otra realización adecuada descrita de la invención. Determinadas características descritas en el contexto de varias realizaciones no se consideran características esenciales de las realizaciones, a menos que la realización sea inoperativa sin esos elementos.

20 Varias realizaciones y aspectos de la presente invención se definen anteriormente en la presente memoria y como se reivindica en la sección de reivindicaciones de a continuación encuentran apoyo experimental en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

25 A continuación se hace referencia a los siguientes ejemplos, que junto con las descripciones anteriores ilustran algunas realizaciones de la invención de un modo no limitante.

Generalmente, la nomenclatura que se emplea en la presente memoria y en los procedimientos de laboratorio utilizados en la presente invención incluyen las técnicas molecular, bioquímica, microbiológica y de ADN recombinante. Tales técnicas se explican a fondo en la bibliografía. Véase, por ejemplo, “Molecular Cloning: A laboratory Manual” Sambrook et al., (1989); “Current Protocols in Molecular Biology” Volúmenes I-III Ausubel, R. M., ed. (1994); Ausubel et al., “Current Protocols in Molecular Biology”, John Wiley e Hijos, Baltimore, Maryland (1989); Perbal, “A Practical Guide to Molecular Cloning”, John Wiley e Hijos, Nueva York (1988); Watson et al., “Recombinant DNA”, Scientific American Books, Nueva York; Birren et al. (eds) “Genome Analysis: A Laboratory Manual Series”, Vols. 1-4, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York (1998); metodologías como las que se establecen en las Patentes U.S. N^{os} 4.666.828; 4.683.202; 4.801.531; 5.192.659 y 5.272.057; “Cell Biology: A Laboratory Handbook”, Volúmenes I-III Cellis, J. E., ed. (1994); “Current Protocols in Immunology” Volúmenes I-III Coligan J. E., ed. (1994); Stites et al. (eds), “Basic and Clinical Immunology” (8^a Edición), Appleton y Lange, Norwalk, CT (1994); Mishell y Shiigi (eds), “Selected Methods in Cellular Immunology”, W. H. Freeman and Co., Nueva York (1980); inmunoensayos disponibles se describen ampliamente en la patente y bibliografía científica, véase, por ejemplo, Patente U.S. N^{os} 3.791.932; 3.839.153; 3.850.752; 3.850.578; 3.853.987; 3.867.517; 3.879.262; 3.901.654; 3.935.074; 3.984.533; 3.996.345; 4.034.074; 4.098.876; 4.879.219; 5.011.771 y 5.281.521; “Oligonucleotide Synthesis” Gait, M. J., ed. (1984); “Nucleic Acid Hybridization” Hames, B. D., y Higgins S. J., eds (1985); “Transcription and Translation” Hames, B. D., y Higgins S. J., Eds (1984); “Animal Cell Culture” Freshney, R. I., ed (1986); “Immobilized Cells and Enzymes” IRL Press (1986); “A Practical Guide to Molecular Cloning” Perbal, B., (1984) y “Methods in Enzymology” Vol. 1-317, Academic Press; “PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications”, Academic Press, San Diego, CA (1990); Marshak et al., “Strategies for Protein Purification and Characterization – A Laboratory Course Manual” CSHL Press (1996); todos los cuales se incorporan por referencia como se expone completamente en la presente memoria. A través de este documento se proporcionan otras referencias generales. Los procedimientos en él se cree que son bien conocidos en la técnica y se proporcionan para la comodidad del lector.

Ejemplo 1

Síntesis química y caracterización de inhibidores POL1

Materiales y Métodos

2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5-oxo-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridina-6-carboxamida (también referido en la presente memoria de manera intercambiable como CX-5461, POL1-I, RAM-0 o referente al Compuesto 1; véase, la estructura química como se presenta en la FIG. 3A y en la Tabla 1 de a

continuación) se sintetizó según procedimientos conocidos (véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente U.S. N° 2009/0093465 y WO 2012/123938).

Todos los reactivos se obtuvieron de Sigma Aldrich.

- 5 Se realizaron análisis ¹H NMR empleando un Bruker Avance DPX-400 Ultra shield o alternativamente un Bruker avance DMX-500. Todos los cambios químicos se refieren como la señal solvente residual.

Todos los análisis MS se realizaron en un espectrofotómetro de masas LCQ Fleet con una fuente ESI. Todos los espectros se registraron en el modo positivo (a menos que se indique lo contrario) y se analizaron mediante el programa informático Thermo Scientific Xcalibur.

Procedimiento Sintético General:

- 10 POL1-I (CX-5461, referente al Compuesto 1) se deja fluir en cloruro de fosforilo durante varias horas para proporcionar el análogo clorado 5-cloro-2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-6-(((5-metilpirazin-2-il)metil)carbamoil)benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridin-12-ium (también referido en la presente memoria como POL1-I/1, RAM-2, RAM Cl o referido como Compuesto 2; véase la Figura 3A y la Tabla 1 de a continuación).

- 15 El cloruro de fosforilo se elimina después por evaporación y el producto bruto 2 se disuelve o suspende en un disolvente alcohólico (por ejemplo, metanol o etanol). Una amina o compuesto de tiol, como se desee, se añade después y la mezcla de reacción resultante se agita, posiblemente bajo reflujo, hasta la reacción completa. Después el disolvente se elimina por evaporación y el producto bruto resultante se purifica, normalmente mediante HPLC preparatoria.

- 20 Se verificó la estructura química del producto obtenido mediante MS (ESI) y /o ¹H NMR, como se detalla en la presente memoria a continuación.

En la FIG. 3 se presenta un ejemplo de ruta sintética de compuestos ejemplarizantes según algunas realizaciones de la presente invención.

5-cloro-2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-6-(((5-metilpirazin-2-il)metil)carbamoil)benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridin-12-ium (POL1-I/1; referente como Compuesto 2):

- 25 MS [ESI]: calcd. 532,1 encontrado [M+H] 532,2.

Preparación de 2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5-tioxo-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridin-6-carboxamida (también referido en la presente memoria, de manera intercambiable, como POL1-I/2; RAM-3; o referente al Compuesto 3):

- 30 Se suspendió 2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5-oxo-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridina-6-carboxamida (referente como Compuesto 1) (100 mg) en 3 mL de cloruro de fosforilo, y se obtuvo una mezcla que se dejó en reflujo durante 3 horas. El cloruro de fosforilo se elimina después por evaporación y el producto bruto obtenido se disolvió en MeOH. Después se añadió hidrosulfuro de sodio (100 mg) y la disolución resultante se agitó durante 5 minutos. El compuesto 3 de referencia obtenido se purificó mediante HPLC preparatoria para obtener 82,4 mg (80% de rendimiento).

- 35 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 13.02 (t, J = 5,58 Hz, 1H), 9,50 (d, J = 7,01 Hz, 1H), 9,23 (d, J = 9,38 Hz, 1H), 8,64 (d, J = 1,13 Hz, 1H), 8,43 (s, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,45 (m, 2H), 6,82 (d, J = 9,42 Hz, 1H), 4,89 (d, J = 5,61 Hz, 2H), 4,17-3,64 (m, 4H), 2,88-2,79 (m, 2H), 2,64-2,57 (m, 2H), 2,56-2,53 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,11 (m, 2H) ppm.

MS [ESI]: calcd. 530,6 encontrado [M+H] 530,2.

- 40 *Preparación de 5-imino-2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftipiridina-6-carboxamida (referido también en la presente memoria, de manera intercambiable, como POL1-I/4; RAM-1 o Compuesto 4):*

- 45 Se suspendió 2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5-oxo-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridin-6-carboxamida (referente como Compuesto 1) (100 mg) en 3 mL de cloruro de fosforilo, y se obtuvo una mezcla que se dejó en reflujo durante 3 horas. El cloruro de fosforilo se elimina después por evaporación y el producto bruto obtenido se disolvió en MeOH. Después se burbujeó amonio gaseoso en metanol durante 1 minuto y la disolución resultante se agitó durante 5 minutos. El compuesto 4 obtenido se purificó mediante HPLC preparatoria para obtener 64 mg (64% rendimiento).

- 50 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃ ppm): 9,28 (d, J = 8,21 Hz, 1H), 8,58 (m, 1H), 8,44 (m, 1H), 8,04 (d, J = 8,72 Hz, 1H), 7,64 (dd, J = 7,62 Hz, 1,35 Hz, 1H), 7,34 (m, 2H), 6,68 (d, J = 9,23 Hz, 1H), 4,68 (s, 2H), 3,98-3,74 (m, 4H), 2,84 (m, 2H), 2,66-2,60 (m, 2H), 2,54 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 2,12 (m, 2H).

MS [ESI]: calcd. 513,2 encontrado [M+H] 513,3.

Preparación de (E/Z)-2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilimino-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a] [1,8]naftiridina-6-carboxamida (también referido en la presente memoria, de manera intercambiable, como POL 1-I/3; o Compuesto 5):

Se suspendió 2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5-oxo-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridina-6-carboxamida (referente como Compuesto 1) (100 mg) en 3 mL de cloruro de fosforilo, y se obtuvo una mezcla que se dejó en reflujo durante 3 horas. El cloruro de fosforilo se elimina después por evaporación y el producto bruto obtenido se disolvió en MeOH. Después se añadió metilamina (3 mL) y la disolución resultante se agitó durante 5 minutos. El compuesto 5 obtenido se purificó mediante HPLC preparatoria para obtener 74 mg (73% rendimiento).

10 MS [ESI]: calcd. 527,6 encontrado [M+H] 527,3.

La *preparación de los Compuestos 6 y 7* (véase, Tabla 1) se realizó de manera similar al del Compuesto 5, empleando propilamina e isopropilamina, respectivamente, y obteniendo 82 mg (76% rendimiento) y 85 mg (79% rendimiento), respectivamente.

MS [ESI]: calcd. 555,7 encontrado [M+H] 555,4, MS [ESI]: calcd. 555,7 encontrado [M+H] 555,3.

15 *Preparación del Compuesto 8 (véase la Tabla 1):*

Se suspendió 2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5-oxo-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridina-6-carboxamida (referente como Compuesto 1) (100 mg) en 3 mL de cloruro de fosforilo, y se obtuvo una mezcla que se dejó en reflujo durante 3 horas. El cloruro de fosforilo se elimina después por evaporación y el producto bruto obtenido se disolvió en MeOH. Después se añadió 3 mL de trietilamina y 100 mg de [cloruro de hidrógeno de metoxilamina] y la disolución resultante se agitó durante 5 minutos. El compuesto 5 obtenido se purificó mediante HPLC preparatoria para obtener 34 mg (32% rendimiento).

20 MS [ESI]: calcd. 543,6 encontrado [M+H] 543,2

Preparación del Compuesto de referencia 9 (véase la Tabla 1):

Se suspendió 2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5-oxo-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridina-6-carboxamida (Compuesto 1) (100 mg) en 3 mL de cloruro de fosforilo, y se obtuvo una mezcla que se dejó en reflujo durante 3 horas. El cloruro de fosforilo se elimina después por evaporación y el producto bruto obtenido se disolvió en MeOH. Se añadieron 100 mg de urea y la disolución resultante se agitó durante 4 horas. El compuesto se purificó mediante HPLC preparatoria para obtener 78 mg (75% rendimiento).

25 MS [ESI]: calcd. 537,2 encontrado [M+H] 537,6

30 *Preparación de (E)-2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilimino-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5-(fenilimino)-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a] [1,8]naftiridina-6-carboxamida (Compuesto 10; Véase, Tabla 1 y Figura 3B):*

Se suspendió 2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)-5-oxo-5H-benzo[4,5]tiazol[3,2-a][1,8]naftiridina-6-carboxamida (100 mg) en 3 mL de cloruro de fosforilo, y la mezcla resultante se dejó en reflujo durante 3 horas. El cloruro de fosforilo se elimina después por evaporación y el producto bruto resultante se disolvió en MeOH. Después se añadió anilina (2 mL) y la disolución resultante se agitó durante 5 minutos. El compuesto se purificó mediante HPLC preparatoria para obtener 56 mg (50% rendimiento).

35 MS [ESI]: calcd. 589,7 encontrado [M+H] 589,4

El *Compuesto 11* (véase, Tabla 1) se preparó de manera similar al Compuesto 10, empleando 3-fluoroanilina en lugar de anilina.

40 MS [ESI]: calcd. 607,2 encontrado [M+H] 607,5

Solubilidad:

La solubilidad de los Compuestos 1 y 10 se determinó mediante la disolución de 50 mg del compuesto de ensayo en 0,5 mL de agua mQ, a temperatura ambiente.

El Compuesto 10 se disolvió inmediatamente en la disolución acuosa, de esta manera el Compuesto 1 se disolvió sólo en una disolución tamponada a pH 4,5 después de agitación vigorosa durante 30 minutos.

45 Ejemplo 2

Ensayo de viabilidad celular

La viabilidad celular se ensayó mediante el ensayo (XTT) 2,3 bis [2-Metoxi-4-nitro-5-sulfofenil]-2H-tetrazolio-5-carboxanilida (Biological Industries, Kibbutz Beit Hemeek, Israel), que mide la reducción de un componente de

tetrazolio (XTT) en un producto de formazán mediante la mitocondria de células viables. La intensidad del tinte obtenido es proporcional al número de células activas metabólicas. El día de la medición, las células se lavaron y se añadió XTT según las instrucciones del fabricante. Las placas se incubaron a 37°C durante 2-5 horas. La absorbancia se leyó a 450 nm.

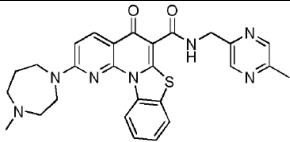
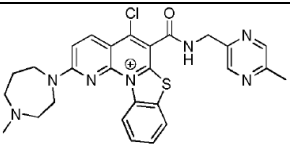
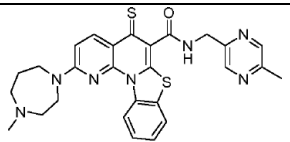
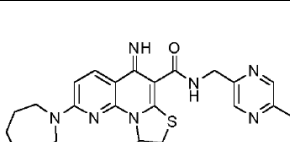
- 5 Se extrajeron los esplenocitos de ratón y se colocaron (250.000 célula/pocillo) en DMEM + 10% FCS+P/S+Q y 10 mg/ml de fitohemaglutinina (PHA), en presencia de concentraciones elevadas (50-400 nM) de RAM-0 (Compuesto 1 de referencia), RAM-1 (Compuesto 4), RAM-2 (Compuesto 2 de referencia), o RAM-3 (Compuesto 3 de referencia) durante 72 horas. Las células cultivadas sin PHA sirvieron como control. Los ratones control en cero son los esplenocitos de ratones sin estimulación por PHA.
- 10 Después de la incubación, se determinó la viabilidad celular mediante ensayo XXT, como se describe anteriormente. Se prepararon también muestras de ARN a partir de cultivos similares.

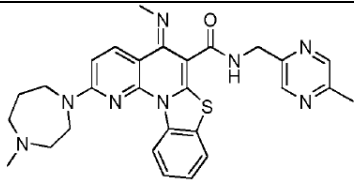
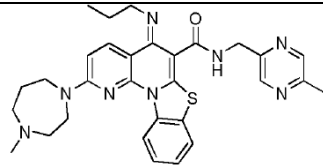
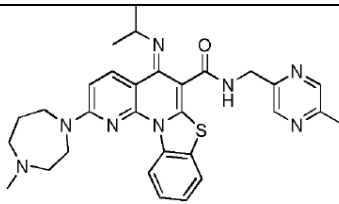
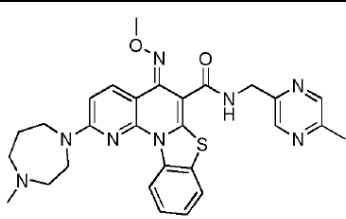
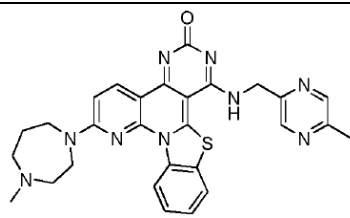
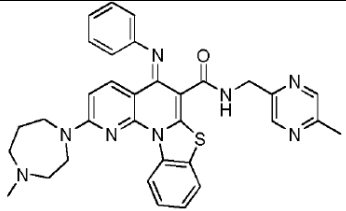
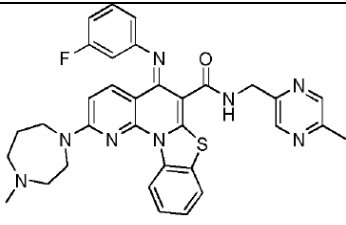
Los datos obtenidos se presentan en la FIG. 4A (Compuesto 1 de referencia en comparación con el Compuesto 2 y el Compuesto 4 de referencia), en la FIG. 4B (Compuesto 1 de referencia en comparación con el Compuesto 3 de referencia), y la FIG. 4C (Compuesto 1 de referencia en comparación con el Compuesto 10 de referencia).

- 15 Como se muestra, la estimulación de PHA dio como resultado un incremento sustancial en la proliferación en comparación con el control. Como se muestra en la FIG. 4A, el Compuesto 4 (RAM-1) muestra una curva de dosis respuesta similar a RAM-0 (Compuesto 1 de referencia), mientras que RAM-2 (Compuesto 2 de referencia) no mostró un efecto sustancial. Como se muestra en la FIG. 4B, RAM-3 (Compuesto 3 de referencia) fue 6 veces más eficaz en la supresión de la proliferación en comparación con el Compuesto 1 de referencia (RAM-0), sugieren dosis terapéuticas mucho más bajas de este compuesto. Como se muestra en la FIG. 4C, el Compuesto 10 muestra un rendimiento mejorado suprimiendo la proliferación en comparación con el Compuesto 1 de referencia. Como se indica a continuación, se encontró también que este compuesto ofrece una mayor ventana terapéutica y mejora la solubilidad y las propiedades farmacocinéticas, en comparación con el Compuesto 1 de referencia.
- 20

- Los valores IC_{50} como se determinaron en estos ensayos de los Compuestos 1-3 de referencia y de los Compuestos 4 y 10, y para todos los demás compuestos ensayados, se presentan en la Tabla 1 de a continuación.
- 25

Tabla 1

Nº	Estructura	Mw	Nombre	XTT
1		513,2	CX-5461; RAM-0; POL1-I	$IC_{50} = 50 \text{ nM}$
2		532,7	RAM-1; POL1-I/1	Sin efecto
3		529,6	RAM-3; POL1-I/2	$IC_{50} = 20 \text{ nM}^*$
4		512,6	RAM-1; POL1-I/4	$IC_{50} = 50 \text{ nM}$

5		526,2	RAM Me	IC ₅₀ = 50 nM
6		554,2	RAM Pr	IC ₅₀ = 50 nM
7		554,3	RAM iPr	IC ₅₀ = 50 nM
8		542,2	RAM MeAM	IC ₅₀ = 50 nM
9		555,2	RAM urea	Sin efecto
10		588,2	RAM An	IC ₅₀ = 40 nM
11		606,2	RAM 3Fan	ND
*Compuesto 2 de referencia, aunque eficaz, se encontró que se descompone en algunos de los experimentos realizados.				

Ejemplo3

Ensayos in vivo

Métodos experimentales:

Inducción de MOG35-55 EAE (Modelo de Prevención): Se indujo EAE (Encefalomiелitis Autoinmune Experimental) en ratones C57BL/6J hembra de 8 semanas de edad (15-20 g, Harlan laboratories, Rehovot, Israel) mediante inmunización con una emulsión que contienen 300 µg de glicoproteína de la mielina de oligodendrocitos (MOG) (MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK, que corresponde a 35-55 restos; obtenido a partir de Difco, Detroit, MI) en suero salino y un volumen igual de adyuvante de Freund que contiene 5 mg de H37RA (Difco, Detroit, MI). Se inyectó 0,2 ml del inóculo de manera subcutánea. Además, se inyectó de manera intraperitoneal 300 ng de Bordetella pertussis (Sigma) en 0,2 ml de suero salino en el día de inducción y dos días después.

El día de inmunización se introdujeron sondas orales en con el compuesto a ensayar, a varias concentraciones que oscilan de 3 mg/kg – 30 mg/kg en PBS o NaH₂PO₄ 50 mM (pH 4,5), o con el vehículo solamente. Los ratones se controlaron a diario por los signos clínicos de EAE, se puntuaron como: 1, cola flácida; 2, debilidad en las extremidades anteriores y escasa capacidad de reparación; 3, parálisis de extremidades traseras; 4, tetraplejia; 5, moribundo. El animal que consiguió una puntuación de 4 se sacrificó empleando CO₂.

El tratamiento se suspendió una vez que el 30% de los animales tratados con el vehículo puntuaron 1 en la puntuación EAE. El experimento finalizó después de 28 días.

Toxicidad: Para el modelo EAE se determinó la dosis letal para el 50% de los animales (LD₅₀), y se estimó en un modelo de administración continuo. Los animales se evaluaron por los signos de toxicidad aguda y supervivencia durante el periodo entero de administración en el modelo EAE. Varias concentraciones se evaluaron por la eficacia, y cuando se observó el 50% de mortalidad en una concentración específica, esta concentración se determinó como la LD₅₀.

El índice terapéutico (LD₅₀/ED₅₀), que también es referido en la presente memoria como el Margen de Seguridad (SM), se determinó después en base al modelo EAE. La ED₅₀ es la dosis eficaz mínima observada para el 50% de los animales ensayados.

Biodisponibilidad: Se realizó la determinación del nivel del compuesto ensayado en suero después de la sonda oral. Se recogieron muestras sanguíneas (0,5 mL) y se centrifugaron inmediatamente a 5.000 rpm durante 10 minutos. El suero se separó y almacenó a -20°C hasta que se realizó el análisis fluorométrico mediante Tecan SpectraFluor, basado en los valores de excitación/emisión específicos del compuesto ensayado. Los parámetros farmacocinéticos que incluyen concentración máxima sérica (C_{max}), el tiempo necesario para alcanzar la C_{max} (T_{max}), y la vida media (T_{1/2}), se calcularon para evaluar la biodisponibilidad oral. Después se calculó la concentración sérica de las sondas orales según la curva de calibración para cada compuesto en el suero.

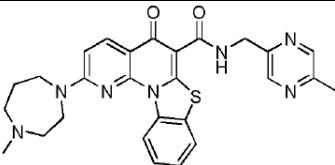
Mediante el método LCMS descrito a continuación se cuantificaron las propiedades farmacocinéticas del compuesto 10. La concentración del Compuesto 10 se calculó con una curva de calibración. El suero se preparó para análisis empleando precipitación proteica. Se añadieron 15 µL de agua a 15 µL de suero y a una disolución de H₂O: MeOH: CHCl₃ (90:120:30). El sobrenadante se sometió a análisis LCMS equipado con una columna PHENOMENEX® C-18 RP.

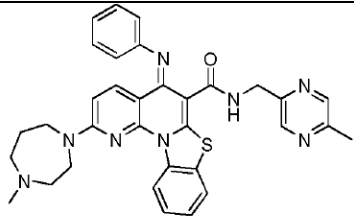
Análisis estadístico: Se realizaron todos los análisis estadísticos para evaluar las diferencias entre grupos mediante el test T y el valor p <0,05 se consideró significativo.

Resultados Experimentales:

La Tabla 2 de a continuación presenta datos comparativos para las dosis eficaces y tóxicas como se determina en el ensayo del modelo de prevención EAE descrito anteriormente en la presente memoria, como se determina para el Compuesto 1 el Compuesto 10 de referencia.

Tabla 2

Nº	Estructura	EAE		
		ED ₅₀	LD ₅₀	SM
1 CX-5461; RAM-0; POL1-I		12,5 mg/kg	25 mg/kg	2

10 RAM An		3 mg/kg	30 mg/kg	10
--------------	---	---------	----------	----

Los compuestos 2 y 9 no se ensayaron; se encontró que las referencias del Compuesto 3 y de los Compuestos 4-7 eran relativamente tóxicos durante estos estudios preliminares.

5 En la Tabla 2 se muestra que el Compuesto 10 muestra un índice terapéutico sustancialmente superior en comparación con CX-5641 (Compuesto 1 de referencia).

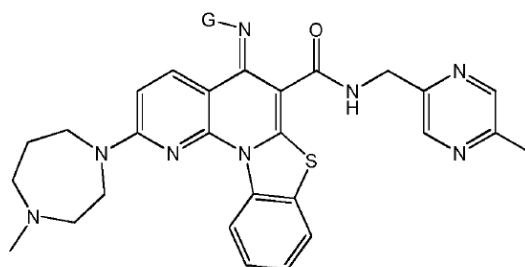
La FIG. 5 presenta una gráfica que muestra el efecto de varias concentraciones del Compuesto 10 (RAM-An) sobre la puntuación clínica de EAE.

10 Las FIGs. 6A-B presentan los datos obtenidos en el ensayo de biodisponibilidad para el Compuesto 1-3 de referencia y de los Compuestos 4-10. Como se muestra en ésta, el Compuesto 10 muestra un compuesto farmacocinético más favorable que la Compuesto 1 de referencia, como se refleja mediante el Cmax superior, el Tmax inferior, y el aclaramiento más rápido.

15 Aunque la invención se ha descrito junto con realizaciones específicas de la misma, es obvio que muchas alternativas, modificaciones y variaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Por consiguiente, se pretende que se abarquen todas estas alternativas, modificaciones y variaciones que entran dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

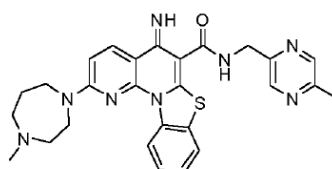
1. Un compuesto representado mediante la Fórmula Ib:



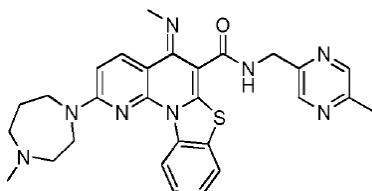
Fórmula Ib,

5 en donde G es hidrógeno, alquilo, arilo, haloarilo o alcoxilo.

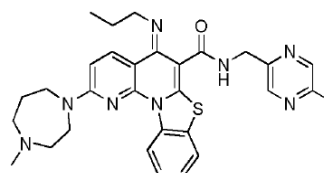
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde G es arilo.
3. El compuesto de la reivindicación 1, que se selecciona de:



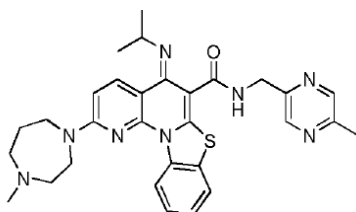
Compuesto 4



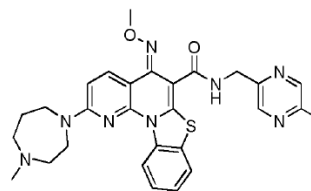
Compuesto 5



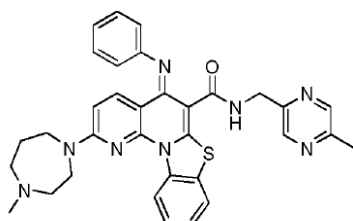
Compuesto 6



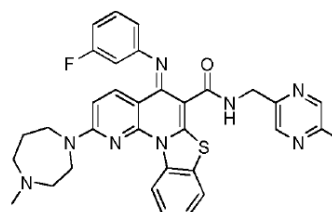
Compuesto 7



Compuesto 8



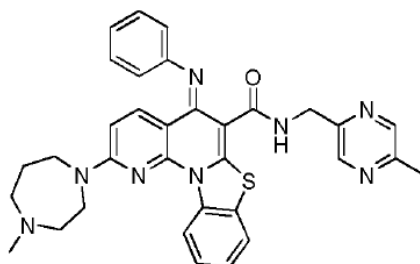
Compuesto 10



Compuesto 11.

y

4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, siendo:



Compuesto 10.

5. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para usar en el tratamiento de una enfermedad autoinmune.
- 5 6. El compuesto para el uso de la reivindicación 5, en donde la enfermedad autoinmune es esclerosis múltiple.
7. El compuesto para el uso de la reivindicación 5, en donde la enfermedad autoinmune es tratable mediante inhibición de la actividad de la ARN Polimerasa I.
8. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para usar en el tratamiento de una enfermedad o trastorno proliferativo.
- 10 9. El compuesto para el uso de la reivindicación 8, en donde dicha enfermedad o trastorno proliferativo es tratable mediante inhibición de una actividad de una proteína quinasa.
10. Un método de inhibición de una actividad de la ARN Polimerasa I, el método comprende poner en contacto la ARN Polimerasa I con una cantidad eficaz de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde dicha puesta en contacto se realiza *in vitro*.
- 15 11. Un método de inhibición de una actividad de una proteína quinasa, el método comprende poner en contacto la proteína quinasa con una cantidad eficaz de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde dicha puesta en contacto se realiza *in vitro*.

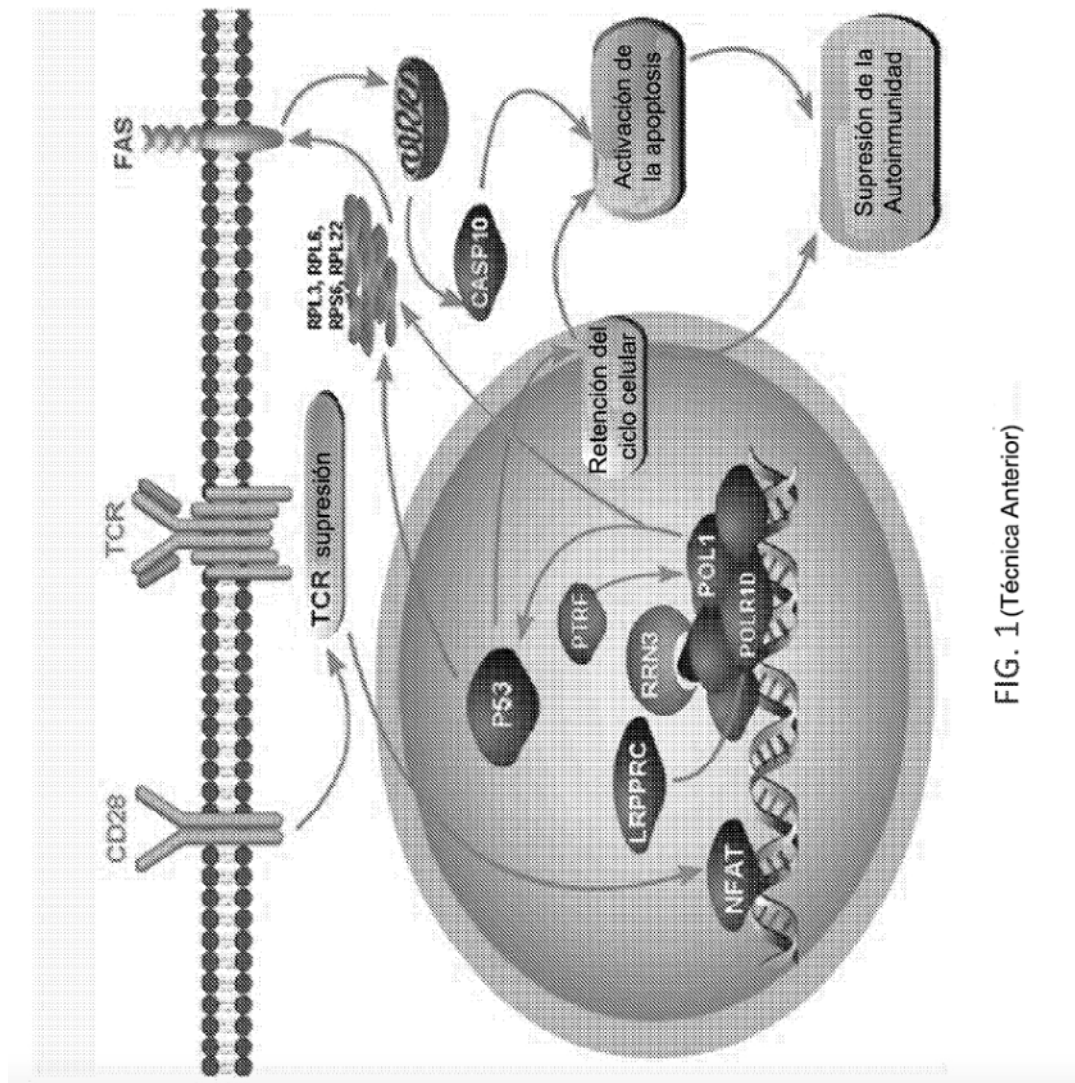


FIG. 1 (Técnica Anterior)

FIG. 2B (Técnica Anterior)

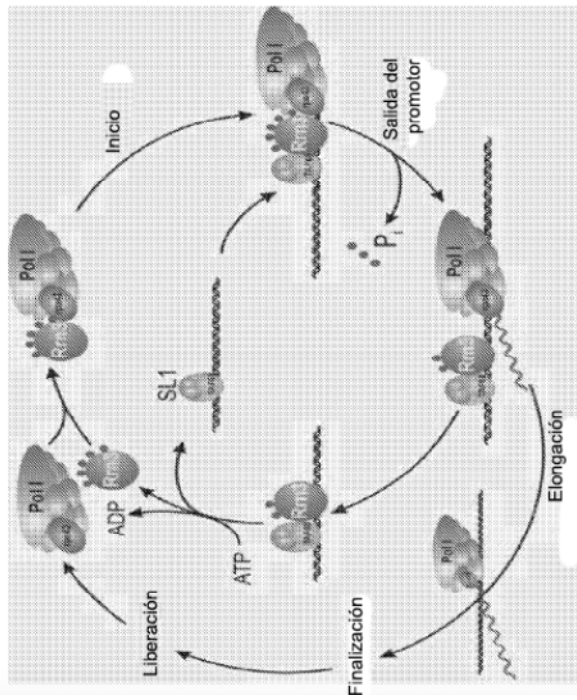
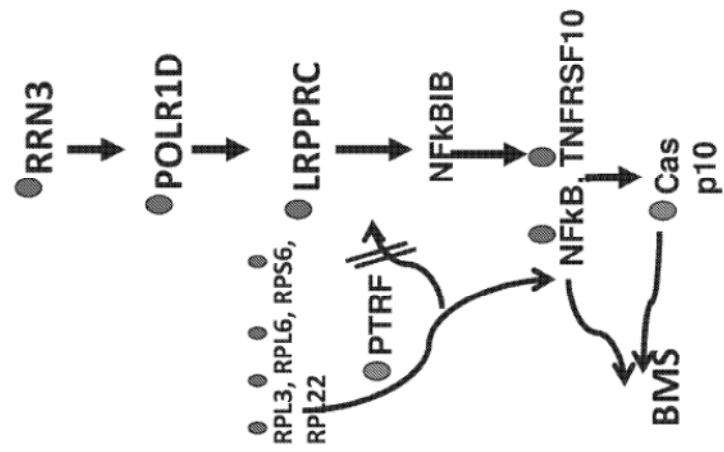


FIG. 2A (Técnica anterior)

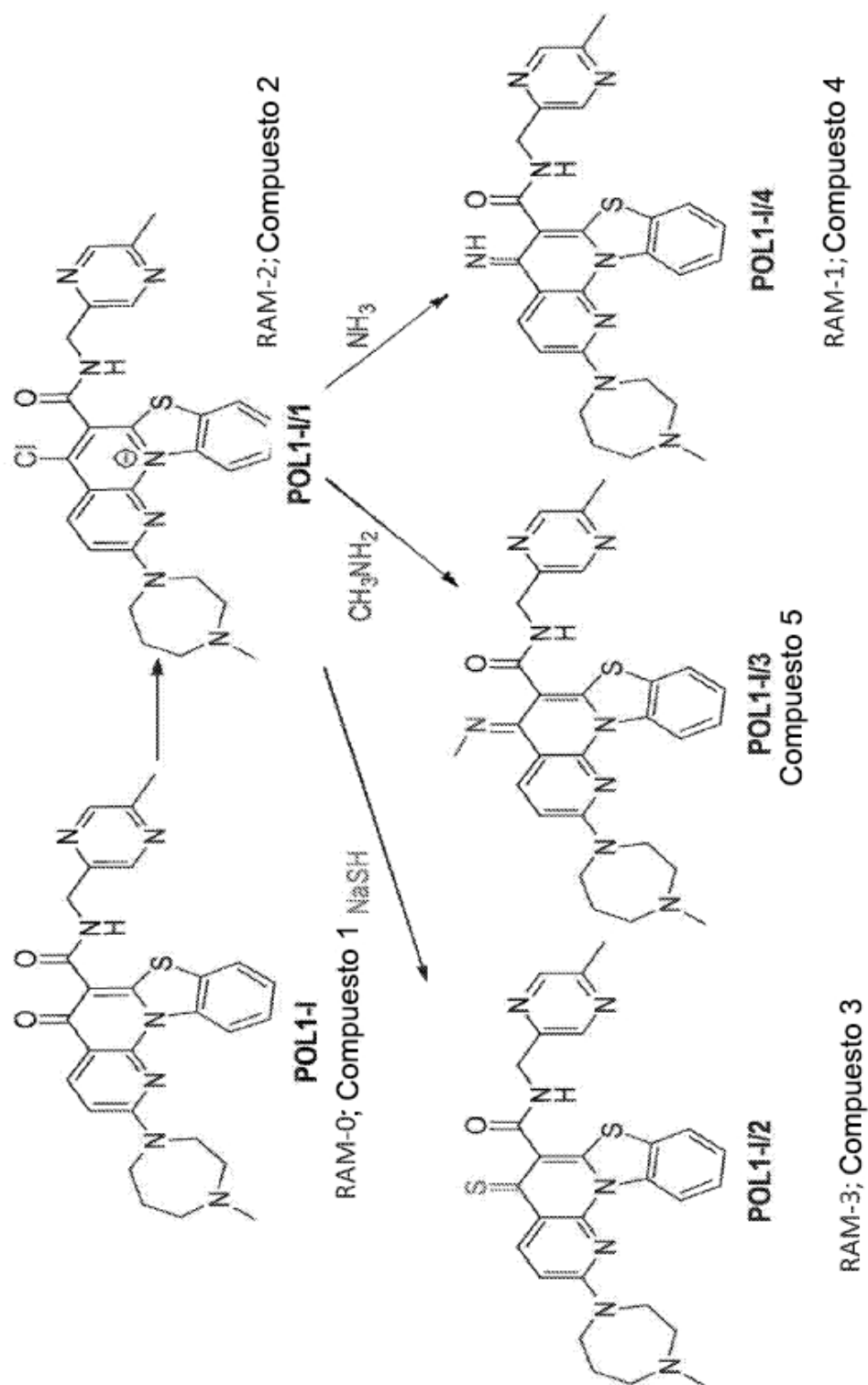


FIG. 3A

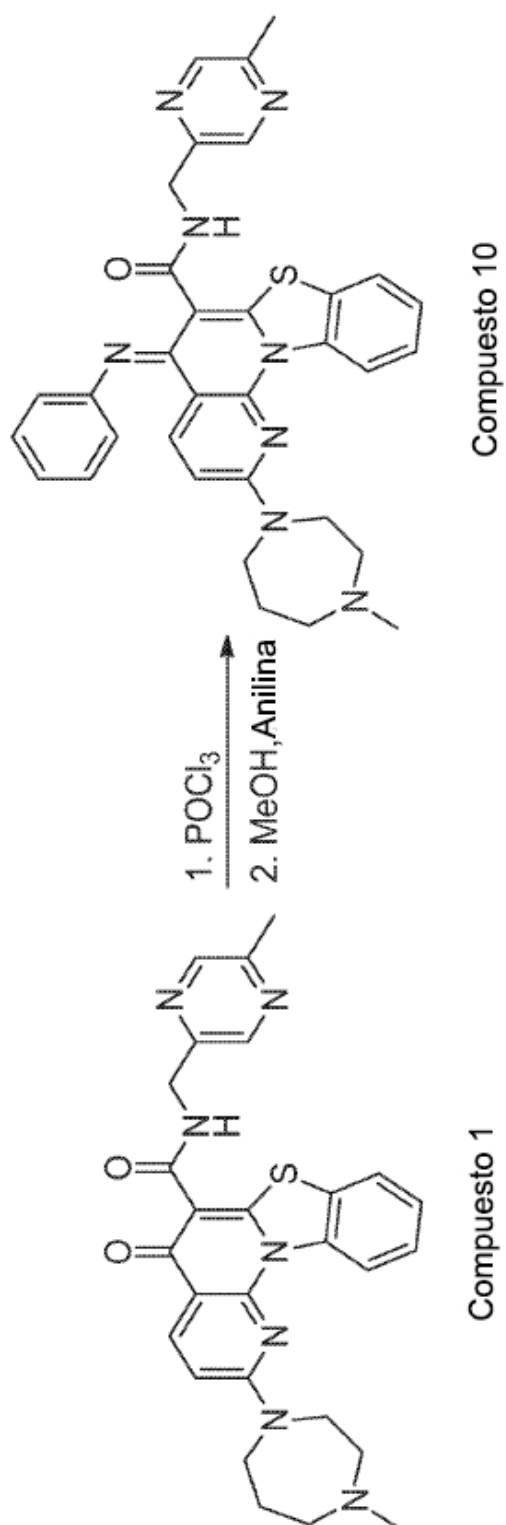


FIG. 3B

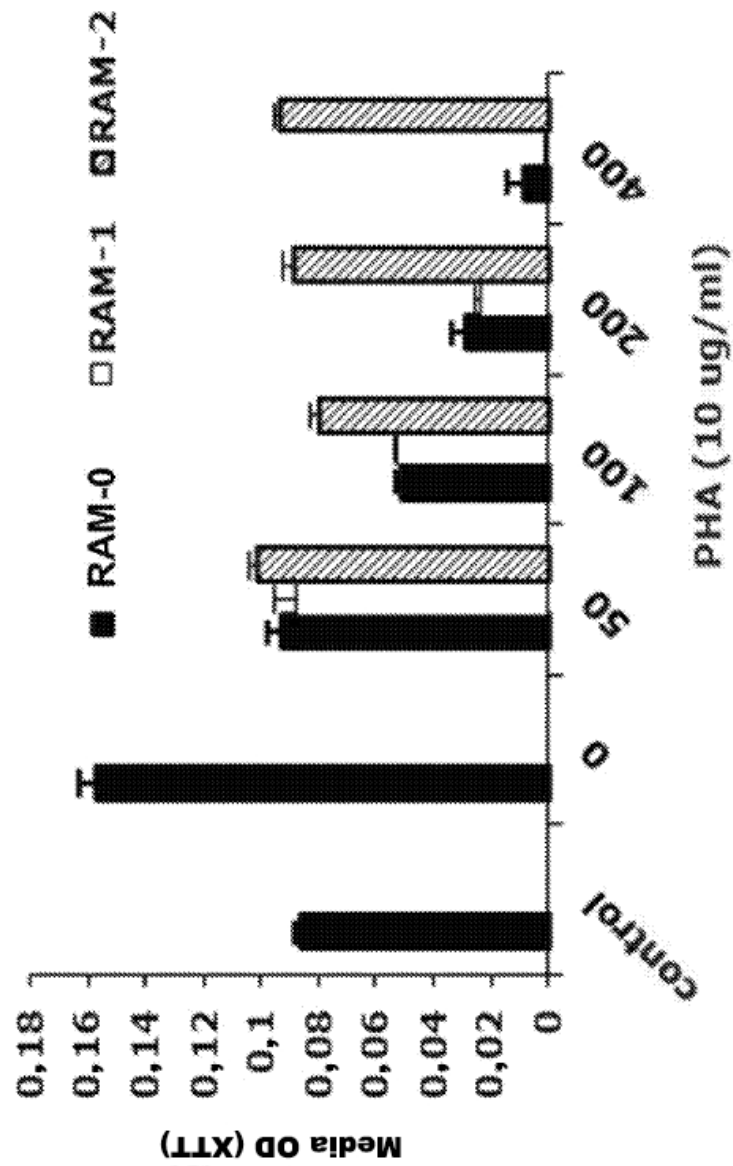


FIG. 4A

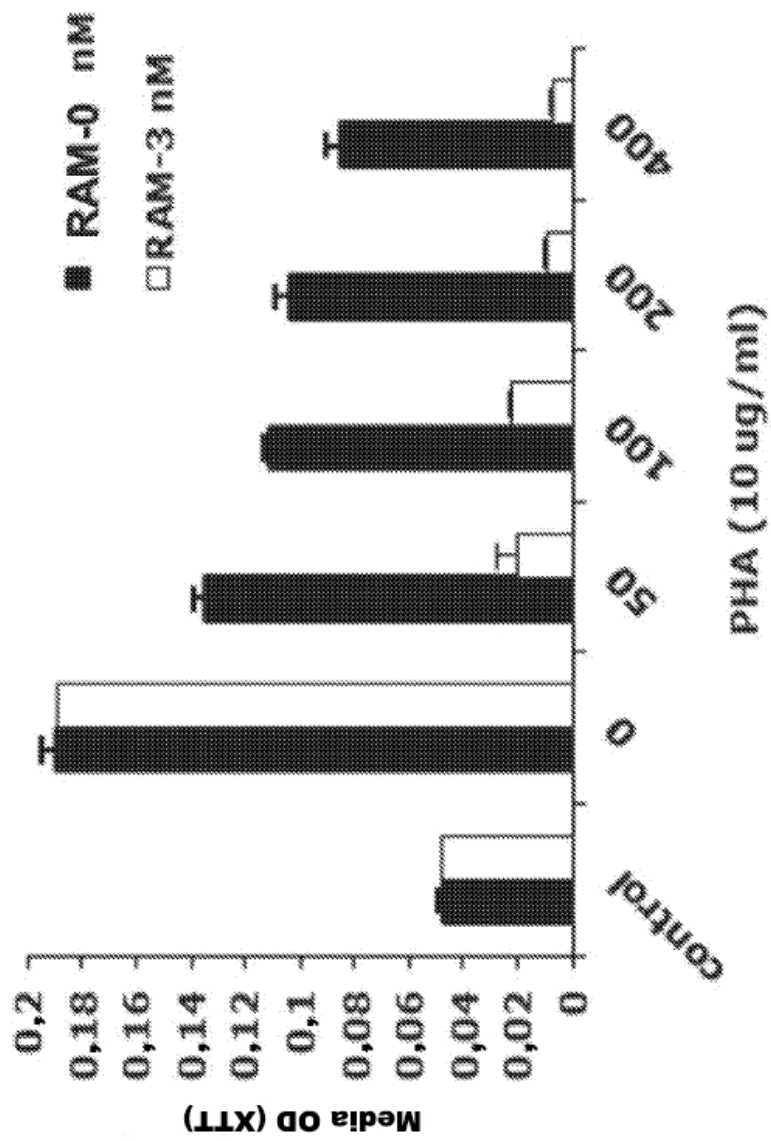


FIG. 4B

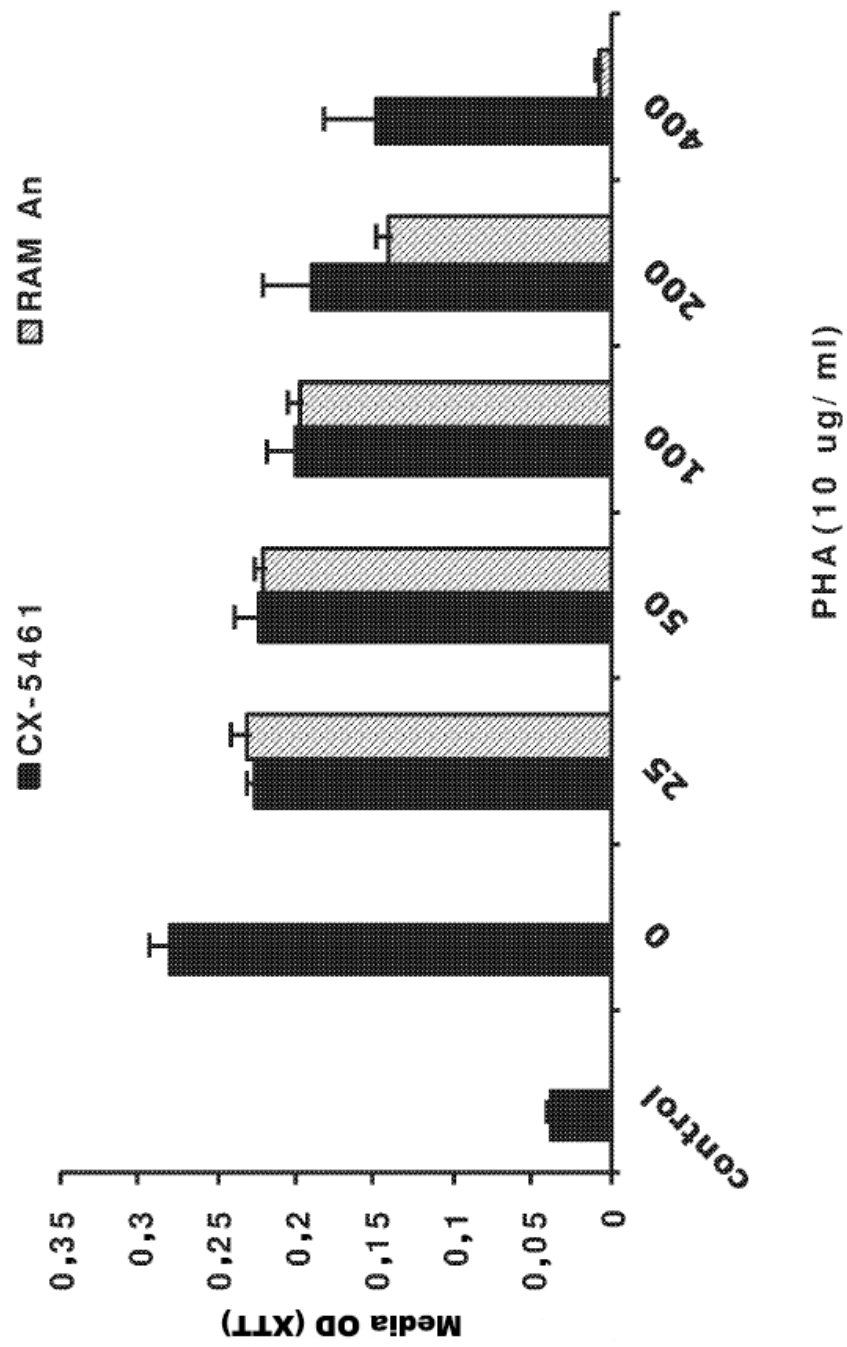


FIG. 4C

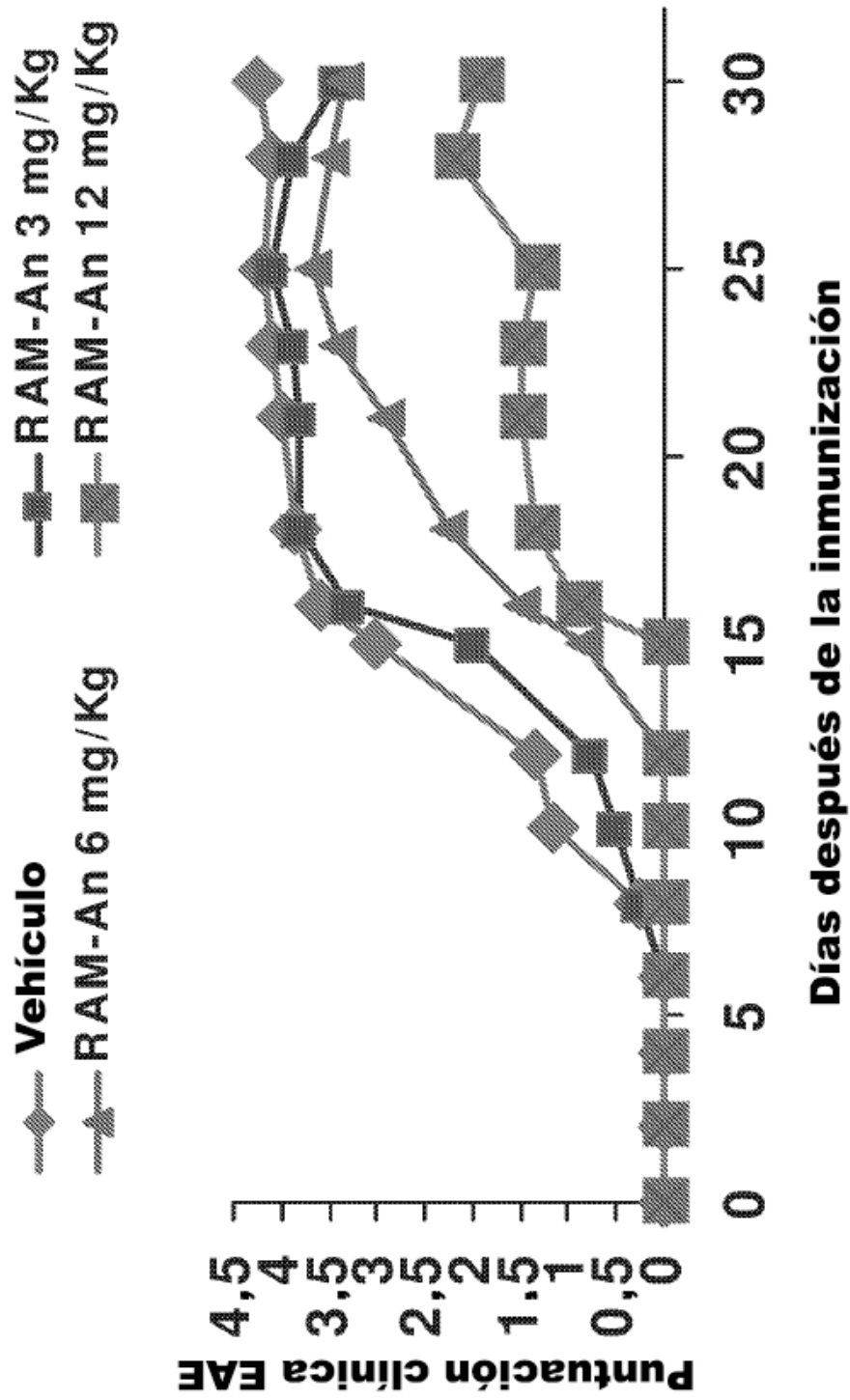


FIG. 5

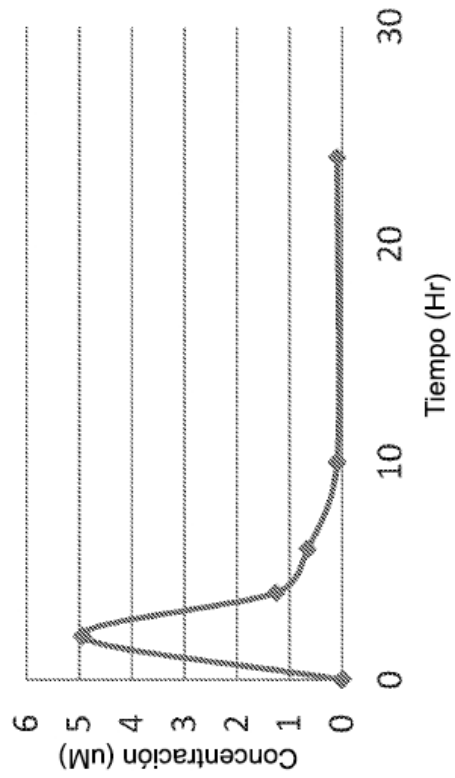


FIG. 6A

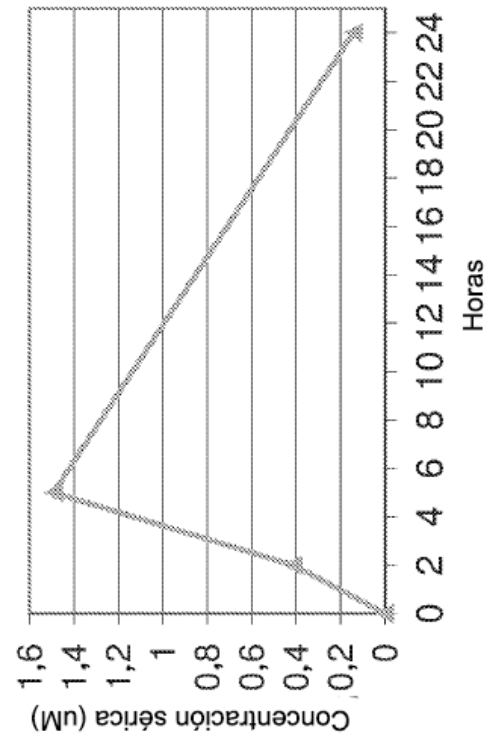


FIG. 6B