

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 791 539**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4355 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61K 31/5025 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2018** **E 18212420 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2020** **EP 3498278**

54 Título: **Compuestos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la expresión de DUX4**

30 Prioridad:

13.12.2017 EP 17207162

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

04.11.2020

73 Titular/es:

FACIO INTELLECTUAL PROPERTY B.V. (100.0%)
Galileiweg 8
2333 BD Leiden, NL

72 Inventor/es:

DE MAEYER, JORIS;
GEESE, MARCUS;
SCHNEIDER, MARTIN;
MONECKE, SEBASTIAN;
KAEVER, ALEXANDER;
ERMANN, MONIKA y
JAMES, TIMOTHY ROBIN

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 791 539 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la expresión de DUX4

Campo de la invención

5 [0001] La presente invención se refiere a compuestos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la expresión de DUX4, tales como las distrofias musculares, en este caso la distrofia muscular facioescapulohumeral (FSHD). También se refiere al uso de tales compuestos o a métodos de uso de tales compuestos.

Estado de la técnica

10 [0002] Las quinasas de serina/treonina (EC 2.7.11.1) son una clase de quinasas de proteínas que son dianas farmacológicas prometedoras para inhibidores de moléculas pequeñas. Debido a su implicación en vías de señalización en células eucarióticas, la inhibición de quinasas de serina/treonina es posible que tenga relevancia para el tratamiento de enfermedades tales como el cáncer, la diabetes y una variedad de trastornos inflamatorios.

15 [0003] La quinasa de caseína 1 (CK1, también conocida como CSNK1) pertenece a la familia de quinasas de serina/treonina. Las isoformas de CK1 están implicadas en la señalización de Wnt, los ritmos circadianos, el transporte nucleocitoplásmico de factores de transcripción, la reparación del ADN y la transcripción del ADN (Eide EJ, Virshup DM (2001) doi:10.1081/CBI-100103963). En mamíferos, la enzima existe en siete isoformas: α , β , γ 1, γ 2, γ 3, δ y ϵ , todas con un dominio de quinasa similar. A través de la fosforilación de proteínas de sustrato diferentes, estas isoformas son capaces de activar, estabilizar, inactivar o desestabilizar las funciones de estas proteínas de sustrato, regulando así sus funciones. Por ejemplo, un factor supresor tumoral p53 y un oncogén mdm2, que son ambas proteínas importantes para controlar el crecimiento celular anormal, son sustratos de CK1.

20 [0004] Las quinasas de caseína de mamíferos tales como la quinasa de caseína 1γ , la quinasa de caseína 1δ y la quinasa de caseína 1ϵ son reguladores importantes de varios procesos de crecimiento y supervivencia celulares que incluyen la señalización de Wnt, los ritmos circadianos y la reparación del ADN. Tienen un dominio de quinasa similar a los de otras isoformas. Sin embargo, sus dominios N-terminal y C-terminal son diferentes de los de otras isoformas. El dominio C-terminal tiene una pluralidad de sitios de autofosforilación, y se considera que está implicado en la regulación de la actividad autoenzimática. La fosforilación de p53 por quinasas de caseína tales como la quinasa de caseína 1δ o la quinasa de caseína 1ϵ lleva a un cambio en la interacción entre p53 y mdm2. También se ha sabido que la quinasa de caseína 1δ y la quinasa de caseína 1ϵ están implicadas como una proteína reguladora asociada a la formación de un husillo como un cuerpo central durante la división celular, y que la quinasa de caseína 1δ y la quinasa de caseína 1ϵ están implicadas en la apoptosis mediada por TRAIL (factor de inducción de apoptosis relacionada con el factor de necrosis tumoral) y Fas. Además se ha informado de que la inhibición de la quinasa de caseína 1δ o la quinasa de caseína 1ϵ por un compuesto inhibitorio de CK1 no selectivo IC261 reduce el crecimiento celular tumoral pancreático *in vitro* e *in vivo* (Brockschmidt et al., 2008, DOI: 10.1136/gut.2007.123695). Por lo tanto, se han desarrollado e investigado inhibidores de CK1 para varios efectos fenotípicos y terapéuticos importantes.

35 [0005] La WO2011051858 divulga inhibidores de CK1 (tanto δ como ϵ) útiles en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades y trastornos asociados al sistema nervioso central. Estos inhibidores forman una serie de compuestos de imidazol sustituido, más específicamente una serie de 4-aril-5-heteroaril-1-heterocicloalquil-imidazoles y análogos relacionados. Se proporcionan tanto su síntesis como los valores IC₅₀ para CK1 δ y ϵ , los últimos de los cuales entran generalmente en el rango nanomolar. Una familia estrechamente relacionada de inhibidores de CK1 se describe en la WO2012085721.

40 [0006] La WO2015119579 divulga una familia que exhibe también un núcleo de azol, en concreto una familia de compuestos de azol 2,4,5-trisustituidos para usar como inhibidores de CK1. Los inhibidores se usan para inducir o aumentar la diferenciación de células madre pluripotentes en cardiomiocitos mediante la inhibición de CK1. Se divulgan vías sintéticas para obtener los inhibidores, y se muestra que los inhibidores tienen generalmente valores IC₅₀ en el rango nanomolar como inhibidores de CK1 δ y ϵ .

45 [0007] La EP2949651 divulga una familia de derivados de benzotiazoles sustituidos que actúan como inhibidores de CK1, y su uso está acoplado al tratamiento y/o la prevención de enfermedades mediadas por CK1, especialmente enfermedades inflamatorias, neurológicas, psiquiátricas, neurodegenerativas y/u oftálmicas y ciertos procesos

regenerativos. Se proporcionan métodos de síntesis, y los inhibidores demostraron tener actividad inhibidora nanomolar sobre CK1 δ y ϵ .

5 [0008] La WO2009016286 divulga derivados de 6-cicloamino-3-(pirid-4-il)imidazo[1,2-b]piridazina útiles como inhibidores de quinasas de proteínas, particularmente como inhibidores de CK1 δ y ϵ . Su síntesis se describe en detalle, y la capacidad de los inhibidores de CK1 para inhibir la fosforilación de caseína por quinasas de caseína δ y ϵ se evaluó según el procedimiento descrito en la US2005/0131012, revelando valores IC₅₀ en el rango nanomolar.

10 [0009] La WO2015195880 divulga una familia con un núcleo similar, en concreto pirazoles bicíclicos sustituidos útiles como inhibidores de quinasas de proteínas. Se describen estrategias sintéticas para obtener los inhibidores, y los inhibidores de CK1 resultantes demostraron ser eficaces sobre CK1 δ y ϵ . Se indica una relevancia particular para el tratamiento del cáncer.

15 [0010] La distrofia muscular facioescapulohumeral (FSHD) es la distrofia muscular hereditaria más predominante. Los síntomas empiezan antes de la edad de 20, con debilidad y atrofia de los músculos alrededor de los ojos y la boca, los hombros, la parte superior de los brazos y la parte inferior de las piernas. Después, la debilidad se puede extender a los músculos abdominales y a veces a los músculos de la cadera, y aproximadamente un 20% de los pacientes finalmente acaban en silla de ruedas. Los pacientes dependen actualmente del tratamiento de los síntomas como el dolor y la fatiga, lo que implica el uso de medicación para el dolor, la terapia cognitiva y el ejercicio físico, a veces suplementados con dispositivos médicos usados para mantener la movilidad del paciente. Además, se puede obtener una función escapular aumentada mediante el tratamiento quirúrgico de la escápula. En el mejor de los casos, estas intervenciones permanecen de naturaleza sintomática y no afectan a la progresión de la enfermedad, lo que ilustra la necesidad de una terapia que sea capaz de modificar la progresión de la enfermedad.

25 [0011] Se ha hecho un progreso significativo en los últimos años en la comprensión de la base molecular de la FSHD. Esto ha resultado en la identificación y la caracterización de las lesiones genéticas fundamentales que causan la FSHD, dando lugar a un nuevo modelo de la patogénesis donde la desrepresión epigenética del retrogén Double Homeobox 4 (DUX4) en células musculares acciona la patología iniciando una cascada de desregulación de la transcripción que causa atrofia muscular, inflamación y estrés oxidativo, que son características clave de la enfermedad. DUX4 comparte similitudes con los factores de transcripción y normalmente se expresa de manera abundante en células germinales de los testículos humanos, mientras que está epigenéticamente reprimido en los tejidos somáticos. Hay un amplio respaldo para el modelo de patogénesis donde la ganancia de función del gen DUX4 en las células musculares subyace a la etiología de la FSHD (Lemmers et al., 2010, DOI: 10.1126/science.1189044; Sharma et al., 2016, DOI:10.4172/2157-7412.1000303, Snider et al., 2010, DOI: 10.1371/journal.pgen.1001181; Tawil et al., 2014, DOI: 10.1186/2044-5040-4-12).

35 [0012] La FSHD se divide a veces en dos subtipos, en concreto, la FSHD1 y la FSHD2. La FSHD1 está asociada a grandes deleciones en una matriz en tándem de ADN (D4Z4) que se sitúa en la región subtelomérica del cromosoma 4q35. Cada una de las repeticiones de D4Z4 contiene una copia del gen *DUX4*, que normalmente está silenciada en los tejidos somáticos de los individuos sanos. Los individuos sanos genéticamente no afectados se definen como con entre 10 y 100 unidades de repetición de D4Z4 en ambos brazos cromosómicos 4q, mientras que los individuos con FSHD1 tienen entre 1 y 10 unidades de repetición de D4Z4 en un brazo cromosómico 4q. Las deleciones de repeticiones de D4Z4 que caracterizan la FSHD eliminan una porción sustancial de cromatina reguladora de esta región, incluidos varios cientos de histonas y una cantidad significativa de ADN rico en CpG. Estos elementos son esenciales en el establecimiento de la metilación del ADN y la heterocromatina y su pérdida altera significativamente el estado epigenético de la matriz de D4Z4. La contracción de D4Z4 es por sí misma no patógena. Solo cuando la contracción de D4Z4 ocurre en un alelo de 4qA que permite la enfermedad, que contiene un polimorfismo que podría afectar a la poliadenilación del transcrito de *DUX4* distal, el contexto epigenético alterado está asociado al empalme alternativo y la expresión aumentada de *DUX4* en los músculos esqueléticos de los pacientes con FSHD1. En la forma mucho más rara FSHD2, la causa es una forma mutada de un factor epigenético tal como SMCHD1 o DNMT3B. En esta forma también, la región de D4Z4 está hipometilada y las células musculares se caracterizan por una proteína *DUX4* desreprimida. Ambas formas de FSHD convergen en la expresión excesiva de *DUX4*. Por lo tanto se ha sugerido que la FSHD1 y la FSHD2 están en un continuo, más que estar separadas (Van den Boogaard et al., 2016, DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.03.013).

50 [0013] *DUX4* actúa como un factor de transcripción cuya expresión inicia una cascada de transcripción que da como resultado la disfunción y la muerte celular muscular progresiva y, en última instancia, una patología manifiesta (Kowaljaw et al., 2007, DOI: 10.1016/j.nmd.2007.04.002; Vanderplanck et al., 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0026820; Geng et al., 2012, DOI: 10.1016/j.devcel.2011.11.013; Yao et al., 2014, DOI: 10.1093/hmg/ddu251; Wallace et al., 2011, DOI:

10.1002/ana.22275). En individuos sanos, DUX4 se expresa en la línea germinal, pero está silenciado epigenéticamente en los tejidos somáticos. En pacientes con FSHD, la expresión de DUX4 de tipo estallido en solo una fracción pequeña de miofibras causa la muerte de miocitos, lo que conduce en última instancia a la debilidad y la atrofia musculares (Lemmers et al., 2010). En los términos más simples, la sobreexpresión de DUX4 es un insulto patógeno primario subyacente a la FSHD, y su represión es un enfoque terapéutico prometedor para la FSHD. En apoyo de esto, los tamaños de repeticiones cortos están generalmente asociados a un fenotipo de FSHD grave. Las contracciones de repeticiones moderadas tienen una gravedad clínica más suave y más variable. Un subtipo muy raro de FSHD, denominado FSHD2, se caracteriza por una contracción de repeticiones moderada (> 10 repeticiones restantes) y está asociado a mutaciones en el gen SMCHD1 o en el gen DNMT3B. También en la FSHD2, la región de D4Z4 está hipometilada y las células musculares se caracterizan por una proteína DUX4 desreprimida. Los pacientes con menos de 10 unidades de repetición de D4Z4 que tienen también una mutación en SMCHD1 tienen un fenotipo clínico muy grave, lo que ilustra que una combinación de tamaño de repeticiones y la actividad de modificadores epigenéticos, que contribuyen ambos a la desrepresión de DUX4, determina eventualmente la gravedad de la enfermedad en la FSHD.

[0014] Campbell et al. (2017, DOI 10.1186/s13395-017-0134-x) cribó una selección de compuestos químicos con actividades epigenéticas conocidas, así como la biblioteca Pharmakon 1600 compuesta por compuestos que han alcanzado el análisis clínico, para identificar moléculas que reduzcan la expresión de DUX4 según se monitorea mediante los niveles de expresión de los ARNm del gen diana DUX4 en cultivos celulares de músculo esquelético FSHD inmortalizados. Identificaron varias clases de moléculas que incluyen inhibidores de la familia de proteínas de bromodominio y extraterminal (BET) y agonistas del receptor beta-2 adrenérgico. Sus estudios sugieren que los compuestos de estas dos clases suprimen la expresión de DUX4 bloqueando la actividad de la proteína que contiene bromodominio 4 (BRD4) o aumentando los niveles de monofosfato de adenosina cíclico (AMPC), respectivamente.

[0015] Debido a su papel causativo en la FSHD, la supresión de DUX4 es un enfoque terapéutico primario para detener la progresión de la enfermedad. Este enfoque podría ser también útil para tratar otras enfermedades, tales como cánceres, incluidos la leucemia linfoblástica aguda (Yasuda et al., 2016, doi: 10.1038/ng.3535) y los sarcomas (Oyama et al., 2017 DOI: 10.1038/s41598-017-04967-0; Bergerat et al., 2017, DOI: 10.1016/j.prp.2016.11.015), etc. Sin embargo, los mecanismos detrás de la expresión de DUX4 son poco entendidos y las dianas farmacológicas correspondientes están poco definidas. Como resultado, actualmente no hay tratamiento para la FSHD, y hay una necesidad de compuestos y composiciones que se puedan usar para suprimir la expresión de DUX4.

Resumen de la invención

[0016] En un primer aspecto, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para usar en el tratamiento de la distrofia muscular facioescapulohumeral (FSHD), donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 reduce la expresión de DUX4. Preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 se caracteriza por el hecho de que se administra a un sujeto 4, 3, 2 o 1 veces al día o menos, preferiblemente 1 vez al día. Preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 inhibe al menos, y es opcionalmente específico para, la quinasa de caseína 1δ. Preferiblemente, el inhibidor de CK1 se caracteriza por el hecho de que se administra a un sujeto en una cantidad que varía de 0,1 a 400 mg/día, preferiblemente de 0,25 a 150 mg/día. Preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 se caracteriza por el hecho de que se administra por vía oral, por vía sublingual, por vía intravascular, por vía intravenosa, por vía subcutánea o por vía transdérmica, preferiblemente por vía oral. Preferiblemente, la expresión de DUX4 se reduce en al menos un 30%, 40%, 60%, 80% o más. Preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 reduce la expresión de DUX4 en las células musculares o las células inmunitarias. Preferiblemente, la reducción de la expresión de DUX4 se determina usando una PCR o una inmunotinción. Preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 es de la clase que comprende un núcleo de azol. Preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 se selecciona del grupo que consiste en los compuestos A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, PF-670462 y PF-5006739.

[0017] En un segundo aspecto, la invención proporciona una composición que comprende al menos un inhibidor de quinasa de caseína 1 tal y como se define en la primera forma de realización y un excipiente farmacéuticamente aceptable, para el uso tal y como se define en la primera forma de realización. Preferiblemente, la composición para el uso se formula para la administración oral, sublingual, parenteral, intravascular, intravenosa, subcutánea o transdérmica, preferiblemente para la administración oral.

[0018] En un tercer aspecto, la invención proporciona un método *in vitro* o *ex vivo* para reducir la expresión de DUX4, donde el método comprende el paso de poner en contacto una célula con un inhibidor de quinasa de caseína 1 tal y como se define en el primer aspecto o con una composición tal y como se define en el segundo aspecto.

Descripción de formas de realización

[0019] Siguiendo el papel central de DUX4 en la hipótesis de enfermedad de consenso para la FSHD, se espera que un enfoque terapéutico con un potencial de modificación de la enfermedad dependa de la inhibición de DUX4. Sorprendentemente, los inventores han identificado la quinasa de caseína 1 (CK1) como una nueva diana farmacológica para conseguir la represión de DUX4 en las células musculares. Esta invención se ha hecho usando células musculares primarias derivadas de pacientes con FSHD. Debido a la especificidad en primates del locus de FSHD y la discutible relevancia de modelos animales o celulares recombinantes, inmortalizados o tumorigénicos para estudiar los mecanismos reguladores endógenos de DUX4, las células musculares primarias derivadas de pacientes son el modelo de la enfermedad más relevante disponible. Los ensayos basados en células inmortalizadas conllevan el riesgo de epigenomas alterados, limitando así su relevancia en el estudio de la regulación endógena de la expresión de DUX4. Particularmente la ubicación subtelomérica de D4Z4 y la importancia del epigenoma de D4Z4 en la estabilidad de la represión de DUX4 (Stadler et al., 2013, DOI: 10.1038/nsmb.2571) subrayan la necesidad de usar células musculares primarias para descubrir dianas farmacológicas fisiológicamente relevantes que regulen la expresión de DUX4.

[0020] DUX4 ha sido considerado históricamente como difícil de detectar en el músculo FSHD. Se ha demostrado que su expresión en mioblastos primarios de pacientes con FSHD es estocástica. Los estudios han informado de que solo 1 en 1000 o 1 en 200 núcleos es positivo para DUX4 en mioblastos FSHD en proliferación y durante la diferenciación de mioblastos, respectivamente. Debido a esta abundancia particularmente baja de DUX4, se ha reportado que la detección de proteína DUX4 es un desafío técnico. Mientras que las células musculares FSHD primarias se han usado extensamente en la literatura de FSHD, ninguno de los informes parecen ser aplicables más allá de un nivel de escala de laboratorio. Las limitaciones planteadas por el uso de células primarias y la complejidad reconocida de la detección de los bajos niveles de DUX4 endógenos ilustran los desafíos asociados a la aplicación de células musculares FSHD primarias a formatos de mayor rendimiento. Aunque la expresión de DUX4 aumenta tras la diferenciación *in vitro* de mioblastos FSHD en proliferación en miotubos multinucleados, los niveles permanecen bajos y se acepta ampliamente que la variabilidad dinámica es extremadamente difícil para enfoques de cribado a gran escala robustos (Campbell et al., 2017).

Compuesto para el uso

[0021] En un primer aspecto, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 (CK1) para usar en el tratamiento de la distrofia muscular facioescapulohumeral (FSHD), donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 reduce la expresión de DUX4. Se hace referencia a tal inhibidor de CK1 en este caso como a un inhibidor de CK1 para el uso según la invención. Se conocen inhibidores de CK1 en la técnica y se describen con más detalle más adelante aquí.

[0022] El uso médico aquí descrito se formula como un compuesto tal y como se define aquí para usar como un medicamento para el tratamiento de la condición o las condiciones declarada(s) (por ejemplo mediante la administración de una cantidad eficaz del compuesto), pero podrían igualmente formularse como i) un método de tratamiento de la condición o las condiciones declarada(s) usando un compuesto tal y como se define aquí que comprende un paso de administración a un sujeto de una cantidad eficaz del compuesto, ii) un compuesto tal y como se define aquí para usar en la producción de un medicamento para tratar la condición o las condiciones declarada(s), donde preferiblemente el compuesto se va a administrar en una cantidad eficaz, y iii) uso de un compuesto tal y como se define aquí para el tratamiento de la condición o las condiciones declarada(s), preferiblemente administrando una cantidad eficaz. Tales usos médicos están todos previstos por la presente invención. Los sujetos preferidos son sujetos que necesitan tratamiento. El tratamiento lleva preferiblemente al retraso, la mejora, el alivio, la estabilización, la curación o la prevención de una enfermedad o condición. En otras palabras, un compuesto para el uso según la invención puede ser un compuesto para el tratamiento, el retraso, la mejora, el alivio, la estabilización, la curación o la prevención de la FSHD.

[0023] El inhibidor de CK1 para el uso según la invención reduce la expresión de DUX4. Esta expresión de DUX4 es preferiblemente la expresión total de DUX4 del sujeto que es tratado. La expresión de DUX4 se puede determinar usando métodos conocidos en la técnica o ejemplificados en los ejemplos. Por ejemplo, la expresión de DUX4 se puede determinar usando técnicas PCR tales como una RT-PCR, o usando inmunotinción, espectrometría de masas o ELISA, por ejemplo sobre una muestra que contiene células o extractos celulares, preferiblemente obtenidos del sujeto. En este contexto, una reducción es preferiblemente una reducción en comparación con o un valor predeterminado o con un valor de referencia. Un valor de referencia preferido es un valor de referencia obtenido determinando la expresión de DUX4 en una muestra no tratada que contiene células o extractos celulares. Esta muestra no tratada puede ser del mismo sujeto o de un sujeto diferente y sano, más preferiblemente es una muestra que se obtuvo de la misma manera, y por tanto contiene el mismo tipo de células. Convenientemente, tanto la muestra de prueba como la muestra de

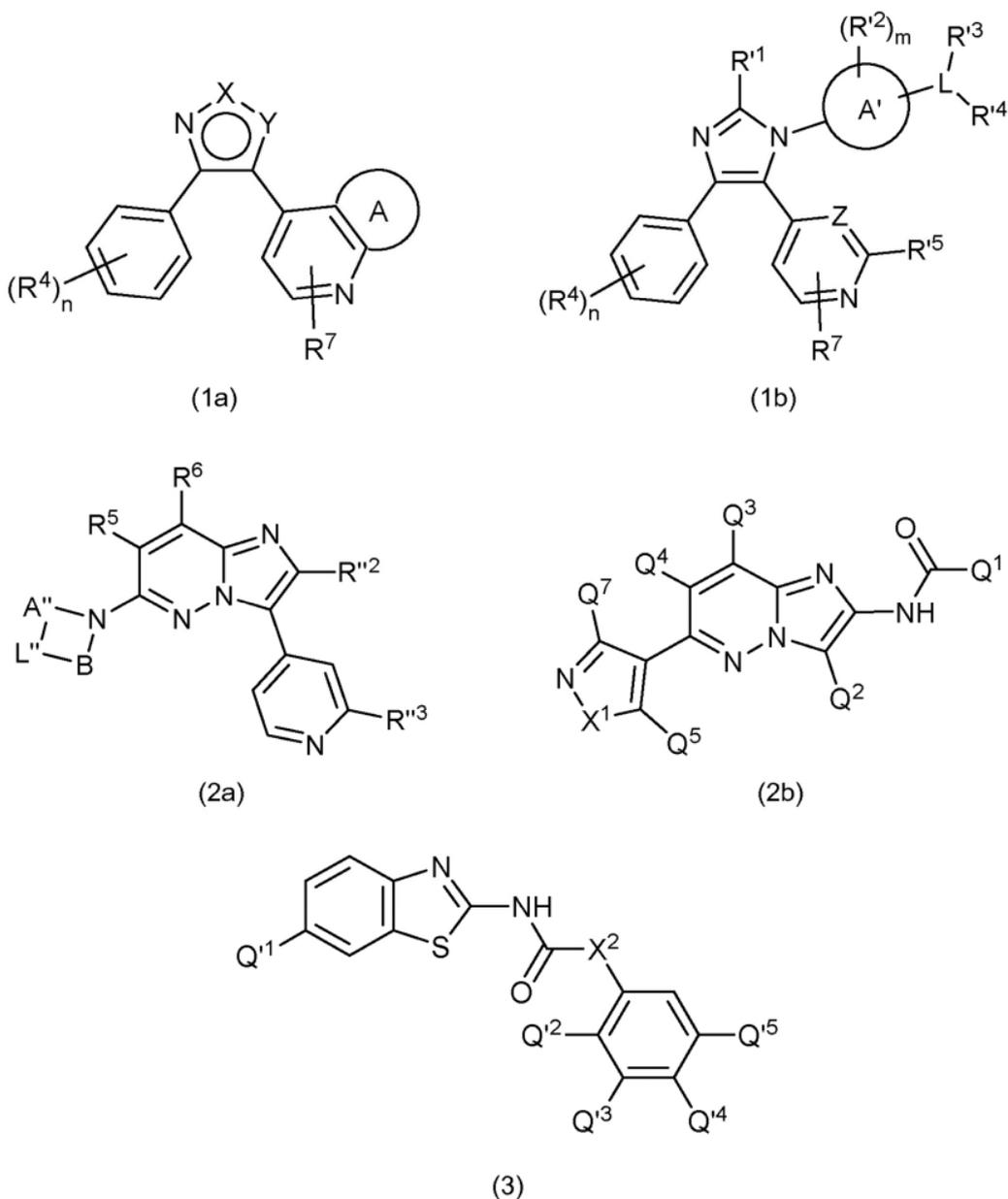
referencia pueden ser parte de una única muestra mayor que se obtuvo. Alternativamente, la muestra de prueba se obtuvo del sujeto antes de comenzar el tratamiento. Un valor de referencia altamente preferido es el nivel de expresión de DUX4 en una muestra obtenida de un sujeto antes de la primera administración del inhibidor de quinasa de caseína 1 según la invención. Otro valor de referencia preferido es un valor fijo que representa una ausencia de expresión de DUX4.

5 [0024] Una reducción de expresión de DUX4 significa preferiblemente que la expresión se reduce al menos un 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100%. Si la expresión de DUX4 se reduce en, por ejemplo, un 100%, puede ser que la expresión de DUX4 ya no pueda ser detectada. La reducción se puede evaluar a nivel de proteína, por ejemplo a través de inmunotinción, ELISA o espectrometría de masas, o se puede evaluar a nivel de ARNm, por ejemplo a través de técnicas PCR tal como una RT-PCR. En formas de realización preferidas, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde la reducción de expresión de DUX4 se determina usando una PCR o una inmunotinción, donde una técnica de PCR preferida es una RT-PCR. En formas de realización preferidas, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde la expresión de DUX4 se reduce al menos un 20%, 40%, 60%, 80% o más, más preferiblemente al menos un 30%, 40%, 60%, 80% o más. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 10%. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 20%. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 30%. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 40%. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 50%. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 60%. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 70%. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 80%. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 90%. En formas de realización preferidas adicionales, la expresión de DUX4 se reduce al menos un 95%. En las formas de realización más preferidas, la expresión de DUX4 se reduce aproximadamente un 100%, preferiblemente un 100%.

[0025] En formas de realización preferidas, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 reduce la expresión de DUX4 en células musculares, células inmunitarias o células cancerosas, preferiblemente en células musculares o células inmunitarias, más preferiblemente en células musculares. Las células musculares preferidas son mioblastos, células satelitales, miotubos y miofibras. Las células inmunitarias preferidas son células B, células T, células dendríticas, neutrófilos, células asesinas naturales, granulocitos, células linfoides innatas, megacariocitos, células supresoras derivadas mieloides, monocitos/macrófagos y timocitos, y opcionalmente mastocitos. Otras células preferidas son las plaquetas y los glóbulos rojos. En otras formas de realización, la expresión de DUX4 se reduce en células cancerosas.

Inhibidor de quinasa de caseína 1

[0026] Se conocen en la técnica inhibidores de quinasa de caseína 1. Preferiblemente, en el contexto de esta invención, un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención tiene la fórmula estructural general (1a), (1b), (2a), (2b) o (3):



donde X e Y son independientemente =N-, -NR¹-, CR¹ o -S-, siempre que al menos uno de entre X e Y sea CR¹,
 el anillo A está ausente (de modo que eficazmente son dos H) o es un cicloalquilo o heterocicloalquilo con de 4 a
 5 7 miembros o un heteroarilo con de 5 a 6 miembros, donde hasta 2 átomos de carbono se sustituyen con un
 heteroátomo seleccionado de entre =N-, -NR²-, -O-, -S- y cualquier átomo de carbono restante se puede sustituir
 con R³ según lo permita la valencia; preferiblemente, el anillo A es un cicloalquilo o heterocicloalquilo con de 4 a
 7 miembros o un heteroarilo con de 5 a 6 miembros, donde hasta 2 átomos de carbono se sustituyen con un
 heteroátomo seleccionado de entre =N-, -NR²-, -O-, -S- y cualquier átomo de carbono restante se puede sustituir
 con R³ según lo permita la valencia;
 10 cada R¹ es independientemente H, C₁₋₄alquilo, C₃₋₆cicloalquilo, -CF₃; -(CH₂)₁₋₃CF₃, arilo con de 4 a 10 miembros,
 heteroarilo con de 4 a 10 miembros, heterocicloalquilo con de 4 a 10 miembros, donde dicho arilo, heteroarilo o
 heterocicloalquilo se puede sustituir con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente de entre
 halógeno, OH, oxo, ciano, -SO₂CH₃, ácido carboxílico que está opcionalmente esterificado con metanol o etanol,
 carboxamida, nitro, C₁₋₆alcoxi, C₁₋₆alquilo o C₁₋₆alquil-O-C₁₋₆alquilo; preferiblemente, cada R¹ es

- independientemente H, C₁₋₄alquilo, C₃₋₆cicloalquilo, -CF₃; -(CH₂)₁₋₃-CF₃, heterocicloalquilo con de 4 a 10 miembros, donde dicho heterocicloalquilo se puede sustituir con hasta dos sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, OH, oxo, ciano, C₁₋₆alquilo o C₁₋₆alquil-O-C₁₋₆alquilo;
- 5 Cada R² es independientemente H, C₁₋₆alquilo, C₄₋₁₀-bicicloalquilo, -(CH₂)_t-CN, -SO₂-C₁₋₆alquilo, -SO₂(CH₂)_t-C₃₋₆cicloalquilo, -C₁₋₆alquil-O-C₁₋₆alquilo, -C₁₋₆alquil-C(O)O-C₁₋₆alquilo, -C₃₋₆cicloalquil-C(O)O-C₁₋₆alquilo, -C(O)-(O)_u-C₁₋₆alquilo, -C(O)-C₁₋₆alquil-O-C₁₋₆alquilo, -C(O)-(O)_u-(CH₂)_t-(C₆₋₁₀arilo), -(CH₂)_t-(C₆₋₁₀arilo), -C(O)-(O)_u-(CH₂)_t (heteroarilo con de 5 a 10 miembros), -(CH₂)_t-C(O)-NR⁵R⁶; -(CH₂)_t-(heteroarilo con de 5 a 10 miembros), -C(O)-(O)_u-(CH₂)_t-(heterocicloalquilo con de 3 a 10 miembros), -(CH₂)_t-(heterocicloalquilo con de 4 a 10 miembros), -C(O)-(O)_u-(CH₂)_t-(cicloalquilo con de 3 a 10 miembros) o -(CH₂)_t-(cicloalquilo con de 3 a 10 miembros),
- 10 donde dicho arilo, heteroarilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo de R² se puede sustituir con hasta dos sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, OH, ciano, C₁₋₆alquilo o C₁₋₆alquil-O-C₁₋₆alquilo, y donde cualquier alquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo de R² se puede sustituir además con oxo donde lo permita la valencia;
- 15 cada R³ está independientemente ausente, es C₁₋₃alquilo, halógeno, oxo, -NR⁵R⁶ u -OR⁵;
- 20 cada R⁴ es independientemente halógeno, -CF₃, C₁₋₃alquilo, -(CH₂)_t-C₃₋₄cicloalquilo, -(CH₂)_t-O-C₁₋₃alquilo, -(CH₂)_t-ciano o -(CH₂)_t-hidroxi, donde un halógeno es preferiblemente F y es preferiblemente *para* respecto al anillo de cinco miembros que comprende X e Y, donde C₁₋₃alquilo es preferiblemente metilo y es preferiblemente *meta* respecto al anillo de cinco miembros que comprende X e Y; preferiblemente, cada R⁴ es independientemente halógeno, -CF₃, C₁₋₃alquilo, -(CH₂)_t-C₃₋₄cicloalquilo, -(CH₂)_t-O-C₁₋₃alquilo, -(CH₂)_t-ciano o -(CH₂)_t-hidroxi;
- 25 cada R⁵ es independientemente H o C₁₋₆alquilo;
- 30 cada R⁶ es independientemente H o C₁₋₆alquilo;
- R⁷ es H, halógeno o C₁₋₃alquilo;
- n es 0, 1 o 2;
- 35 cada t es independientemente 0, 1 o 2;
- 40 cada u es independientemente 0 o 1;
- y donde
- A' es un cicloalquilo con de 4 a 7 miembros, un heterocicloalquilo que contiene nitrógeno con de 4 a 7 miembros, o alternativamente A' puede estar directamente fusionado al anillo al que se une a través de R¹; preferiblemente, A' es un heterocicloalquilo que contiene nitrógeno con de 4 a 7 miembros, o alternativamente A' puede estar directamente fusionado al anillo al que se une a través de R¹;
- 45 L es C₁₋₃alquilo;
- R¹ es hidrógeno, C₁₋₃alquilo o C₃₋₄cicloalquilo;
- 50 cada R² es independientemente C₁₋₃alquilo, flúor, hidroxilo, C₁₋₃alcoxi o ciano;
- R³ es hidrógeno, C₁₋₃alquilo o C₃₋₄cicloalquilo;
- 55 R⁴ es un heteroarilo con de 5 a 10 miembros con de 1 a 3 heteroátomos, sustituido opcionalmente con de 1 a 3 sustituyentes R⁴;
- R⁵ es hidrógeno o -N(R⁸)₂;
- Z es N o -CR⁹;
- 60 cada R⁸ es independientemente hidrógeno o C₁₋₃alquilo;
- R⁹ es hidrógeno, C₁₋₃alquilo o halógeno;
- m es 0, 1 o 2;
- 65 q es 1, 2 o 3;
- y donde
- R² representa un grupo arilo sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados de entre halógeno, C₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquiloxi, C₁₋₆alquiltio, C₁₋₆fluoroalquilo, C₁₋₆fluoroalquiloxi y -CN;
- 70 R³ representa H, C₁₋₃alquilo, -NR⁴R⁵, hidroxilo o C₁₋₄alquiloxi;
- A" representa C₁₋₇-alquileo sustituido opcionalmente con uno o dos R^a;
- B representa C₁₋₇-alquileo sustituido opcionalmente con R^b;
- 75 L" representa o N sustituido con R^c o R^d, o C sustituido con R^{e1} y R^d o con dos grupos R^{e2};
- 80 donde los átomos de carbono de A" y B están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos R^f, que pueden ser idénticos o diferentes entre sí;
- R^a, R^b y R^c se definen de manera que:
- 85 dos grupos R^a pueden formar juntos C₁₋₆alquileo;
- R^a y R^b pueden formar juntos un enlace o C₁₋₆alquileo;
- R^a y R^c pueden formar juntos un enlace o C₁₋₆alquileo;
- R^b y R^c pueden formar juntos un enlace o C₁₋₆alquileo;

R^d representa un grupo seleccionado de entre H, C₁₋₆alquilo, C₃₋₇cicloalquilo, C₃₋₇cicloalquil-C₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquiltio-C₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquiloxi-C₁₋₆alquilo, C₁₋₆fluoroalquilo, bencilo, C₁₋₆acilo e hidroxilo-C₁₋₆alquilo;

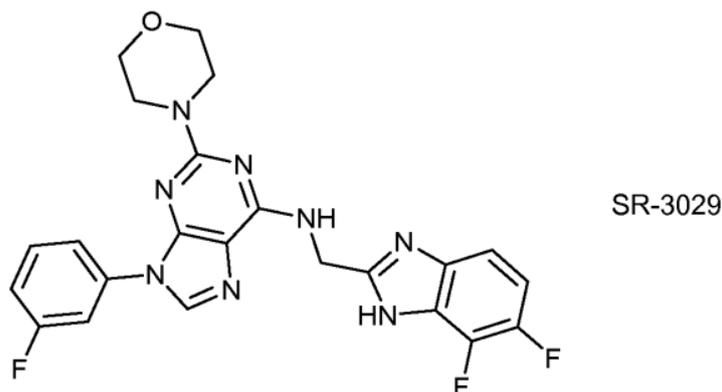
- R^{e1} representa $-NR^{n4}R^{n5}$ o una monoamina cíclica que comprende opcionalmente un átomo de oxígeno, donde la monoamina cíclica está sustituida opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados de entre F, C₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquiloxi e hidroxilo;
- 5 dos grupos R^{e2} forman, con el átomo de carbono que los lleva, una monoamina cíclica que comprende opcionalmente un átomo de oxígeno, donde esta monoamina cíclica está opcionalmente sustituida con uno o más R^f , que pueden ser idénticos o diferentes entre sí;
- R^f representa C₁₋₆alquilo, C₃₋₇cicloalquilo, C₃₋₇cicloalquilo C₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquiloxi-C₁₋₆alquilo, hidrox-C₁₋₆alquilo, C₁₋₆fluoroalquilo o bencilo;
- 10 R^{n4} y R^{n5} representan cada uno independientemente H, C₁₋₄alquilo, C₃₋₇cicloalquilo o C₃₋₇cicloalquil-C₁₋₆alquilo;
- y donde
- X^1 se selecciona de entre O y NQ⁶; siempre y cuando X^1 sea NQ⁶, Q⁵ y Q⁶ junto con el átomo de nitrógeno y el átomo de carbono adyacente al que están respectivamente unidos forman un anillo heterocíclico que comprende átomos de carbono y de cero a 3 heteroátomos adicionales seleccionados de entre N, NQ⁸, O, S y sustituidos con 1-5 Q¹⁰;
- 15 Q¹ es C₁₋₄alquilo sustituido opcionalmente con halógeno, OH, CN y NQ^aQ^a, o Q¹ es $-(CQ^dQ^d)_r$ -carbociclilo sustituido con 0-5 Q¹¹, y $-(CQ^dQ^d)_r$ -heterociclilo que comprende átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de entre N, NQ⁹, O, S, y sustituido con 0-5 Q¹¹;
- Q² se selecciona de entre H, C₁₋₄alquilo, halógeno, CN, arilo y heteroarilo;
- 20 Q³ se selecciona de entre H y C₁₋₄alquilo;
- Q⁴ se selecciona de entre H, C₁₋₄alquilo halógeno y CN;
- Q⁵ se selecciona de entre H, C₁₋₄alquilo sustituido con 0-4 Q^e, $-(CH_2)_r$ -C₃₋₆carbociclilo sustituido con 0-4 Q^e y $-(CH_2)_r$ -heterociclilo que comprende átomos de carbono y de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de entre N, O, S, y sustituido con de 0-4 Q^e;
- 25 Q⁷ es arilo sustituido con 0-3 Q^e;
- Q⁸ se selecciona de entre H, C₁₋₄alquilo sustituido con 0-3 Q^e, $-(CH_2)_r$ CN, $-(CH_2)_r$ OQ^b, $-(CH_2)_r$ S(O)_pQ^c, $-(CH_2)_r$ C(=O)Q^b, $-(CH_2)_r$ NQ^aQ^a, $-(CH_2)_r$ C(=O)NQ^aQ^a, $-(CH_2)_r$ C(=O)-C₁₋₄alquilo sustituido con 0-3 Q^e, $-(CH_2)_r$ NQ^aC(=O)Q^b, $-(CH_2)_r$ NQ^aC(=O)OQ^b, $-(CH_2)_r$ OC(=O)NQ^aQ^a, $-(CH_2)_r$ NQ^aC(=O)NQ^aQ^a, $-(CH_2)_r$ C(=O)OQ^b, $-(CH_2)_r$ S(O)₂NQ^aQ^a, $-(CH_2)_r$ NQ^aS(O)₂NQ^aQ^a, $-(CH_2)_r$ NQ^aS(O)₂Q^c, $-(CH_2)_r$ -carbociclilo sustituido con 0-3 Q^e y $-(CH_2)_r$ -heterociclilo sustituido con 0-3 Q^e;
- 30 Q⁹ se selecciona de entre H, $-C(=O)Q^b$, C₁₋₆alquilo sustituido con 0-5 Q^e, $-(CH_2)_r$ -C₃₋₆carbociclilo sustituido con 0-5 Q^e y $-(CH_2)_r$ -heterociclilo sustituido con 0-5 Q^e;
- Q¹⁰ se selecciona de entre H, C₁₋₆alquilo sustituido con 0-3 Q^e, $-(CH_2)_r$ NQ^aQ^a, $-(CH_2)_r$ C(=O)Q^b, $-(CH_2)_r$ C(=O)OQ^b, $-(CH_2)_r$ C(=O)NQ^aQ^a, $-S(O)_pQ^c$, $-(CH_2)_r$ C₃₋₆ carbociclilo sustituido con 0-3 Q^e y $-(CH_2)_r$ -heterociclilo sustituido con 0-3 Q^e;
- 35 cada Q¹¹ se selecciona independientemente de entre H, halógeno, =O, CN, NO₂, -OQ^b, $-S(O)_pQ^c$, $-C(=O)Q^b$, $-(CQ^dQ^d)_r$ NQ^aQ^a, $-(CQ^dQ^d)_r$ C(=O)NQ^aQ^a, $-NQ^aC(=O)Q^b$, $-NQ^aC(=O)OQ^b$, $-OC(=O)NQ^aQ^a$, $-NQ^aC(=O)NQ^aQ^a$, $-(CQ^dQ^d)_r$ C(=O)OQ^b, $-S(O)_2NQ^aQ^a$, $-NQ^aS(O)_2NQ^aQ^a$, $-NQ^aS(O)_2Q^c$, C₁₋₆alquilo sustituido con 0-5 Q^e, $-(CQ^dQ^d)_r$ -C₃₋₆carbociclilo sustituido con 0-5 Q^e y $-(CQ^dQ^d)_r$ -heterociclilo sustituido con 0-5 Q^e;
- 40 cada Q^a se selecciona independientemente de entre H, CN, C₁₋₆alquilo sustituido con 0-5 Q^e, C₂₋₆alquenoilo sustituido con 0-5 Q^e, C₂₋₆alquinilo sustituido con 0-5 Q^e, $-(CH_2)_r$ -C₃₋₁₀carbociclilo sustituido con 0-5 Q^e y $-(CH_2)_r$ -heterociclilo sustituido con 0-5 Q^e; o dos casos de Q^a junto con el átomo de nitrógeno al que están ambos unidos forman un anillo heterocíclico sustituido con 0-5 Q^e;
- 45 cada Q^b se selecciona independientemente de entre H, C₁₋₆alquilo sustituido con 0-5 Q^e, C₂₋₆alquenoilo sustituido con 0-5 Q^e, C₂₋₆alquinilo sustituido con 0-5 Q^e, $-(CH_2)_r$ -C₃₋₁₀carbociclilo sustituido con 0-5 Q^e y $-(CH_2)_r$ -heterociclilo sustituido con 0-5 Q^e;
- cada Q^c se selecciona independientemente de entre C₁₋₆alquilo sustituido con 0-5 Q^e, C₂₋₆alquenoilo sustituido con 0-5 Q^e, C₂₋₆alquinilo sustituido con 0-5 Q^e, C₃₋₆carbociclilo sustituido con 0-5 Q^e y heterociclilo sustituido con 0-5 Q^e;
- 50 cada Q^d se selecciona independientemente de entre H y C₁₋₄alquilo sustituido con 0-5 Q^e;
- cada Q^e se selecciona independientemente de entre C₁₋₆alquilo sustituido con 0-5 Q^f, C₂₋₆alquenoilo, C₂₋₆alquinilo, $-(CH_2)_r$ -C₃₋₆cicloalquilo, halógeno, CN, NO₂, =O, CO₂H, $-(CH_2)_r$ OQ^f, SQ^f y $-(CH_2)_r$ NQ^fQ^f;
- cada Q^f se selecciona independientemente de entre H, F, C₁₋₅alquilo, C₃₋₆cicloalquilo y fenilo, o dos casos de Q^f junto con el átomo de nitrógeno al que están ambos unidos forman un anillo heterocíclico sustituido opcionalmente con C₁₋₄alquilo;
- 55 cada p es independientemente 0, 1 o 2; y
- cada r es independientemente 0, 1, 2, 3 o 4,
- y donde
- X^2 se selecciona de entre -NH-, -CH₂-, -CH(Ph)-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH(Ph)-, -CH=CH-, -CH₂OCH₂-, -CH₂NHC(O)-, -CH₂NHC(O)CH(Ph)- y -CH₂NHC(O)CH₂-,
- 60 Q¹ se selecciona de entre Q⁶, halógeno, -CF₃, -OCF₃, -OQ⁶, -CO₂Q⁶, -SO₂N(Q⁶)₂ y -NO₂;

Q², Q³, Q⁴ y Q⁵ se seleccionan independientemente de entre H, halógeno, C₁₋₆alcoxi, -NH₂, -NHQ⁶, -CN, -NO₂, -OCF₃ y -CO₂Q⁶; donde

Q⁶ se selecciona de entre H y C₁₋₆alquilo; y donde, cuando X² es -CH(Ph)-, -CH₂CH(Ph)- o -CH₂NHC(O)CH(Ph)-, entonces Q², Q³, Q⁴ y Q⁵ son H,

5 o isómeros o sales farmacéuticamente aceptables derivados.

[0027] Un inhibidor de CK1 para el uso según la invención también puede ser SR-3029.



[0028] En formas de realización preferidas, el inhibidor de CK1 para el uso según la invención tiene la fórmula general (Ia) o (Ib), o isómeros o sales farmacéuticamente aceptables derivados, donde X, Y, A, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, n, t, u, A', L, R^{1'}, R^{2'}, R^{3'}, R^{4'}, R^{5'}, Z, R⁸, R⁹, m y q son tal y como se han definido anteriormente. En otra forma de realización preferida, tiene la fórmula general (Ia), o isómeros o sales farmacéuticamente aceptables derivados, donde X, Y, A, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, n, t, u, A', L, R^{1'}, R^{2'}, R^{3'}, R^{4'}, R^{5'}, Z, R⁸, R⁹, m y q son tal y como se han definido anteriormente. En otra forma de realización preferida, tiene la fórmula general (Ib), o isómeros o sales farmacéuticamente aceptables derivados, donde X, Y, A, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, n, t, u, A', L, R^{1'}, R^{2'}, R^{3'}, R^{4'}, R^{5'}, Z, R⁸, R⁹, m y q son tal y como se han definido anteriormente. Los inhibidores de CK1 de esta clase se conocen *per se* en la técnica y su estructura y su síntesis se describen con más detalle en, por ejemplo, la WO2011051858, la WO2012085721 y la WO2015119579.

[0029] Los inhibidores de CK1 de esta clase comprenden un núcleo de azol. En formas de realización preferidas de este aspecto, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 es de la clase que comprende un núcleo de azol. Más preferiblemente, estos inhibidores de CK1 para el uso comprenden una fracción 4-aryl-5-heteroaril-1-heterocicloalquil-imidazol. Preferiblemente, para estos inhibidores, está presente un único R⁴, *para* respecto al núcleo de azol; más preferiblemente este R⁴ es F. Por consiguiente, en formas de realización más preferidas adicionales, el inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención comprende un núcleo de azol enlazado a una fracción 4-halofenilo, preferiblemente una fracción 4-fluorofenilo. Compuestos altamente preferidos que comprenden un núcleo de azol son los compuestos D, E, F y G según se muestra en la tabla 3; el compuesto D es aún más preferido.

[0030] En formas de realización preferidas, el inhibidor de CK1 para el uso según la invención tiene la fórmula general (2a) o (2b), o isómeros o sales farmacéuticamente aceptables derivados, donde R⁵, R⁶, R¹², R¹³, A", B, L", R^a, R^b, R^c, R^d, R^{e1}, R^{e2}, R^f, R¹⁴, R¹⁵, X¹, Q¹, Q², Q³, Q⁴, Q⁵, Q⁶, Q⁷, Q⁸, Q⁹, Q¹⁰, Q¹¹, Q^a, Q^b, Q^c, Q^d, Q^e, Q^f, r y P son tal y como se ha definido anteriormente. En otra forma de realización preferida, tiene la fórmula general (2a) o isómeros o sales farmacéuticamente aceptables derivados, donde R⁵, R⁶, R¹², R¹³, A", B, L", R^a, R^b, R^c, R^d, R^{e1}, R^{e2}, R^f, R¹⁴, R¹⁵, X¹, Q¹, Q², Q³, Q⁴, Q⁵, Q⁶, Q⁷, Q⁸, Q⁹, Q¹⁰, Q¹¹, Q^a, Q^b, Q^c, Q^d, Q^e, Q^f, P y r son tal y como se ha definido anteriormente. En otra forma de realización preferida, tiene la fórmula general (2b) o isómeros o sales farmacéuticamente aceptables derivados, donde R⁵, R⁶, R¹², R¹³, A", B, L", R^a, R^b, R^c, R^d, R^{e1}, R^{e2}, R^f, R¹⁴, R¹⁵, X¹, Q¹, Q², Q³, Q⁴, Q⁵, Q⁶, Q⁷, Q⁸, Q⁹, Q¹⁰, Q¹¹, Q^a, Q^b, Q^c, Q^d, Q^e, Q^f, P y r son tal y como se ha definido anteriormente. Los inhibidores de CK1 de esta clase se conocen *per se* en la técnica y su estructura y su síntesis se describen con más detalle en, por ejemplo, la WO2009016286 y la WO2015195880.

[0031] Los inhibidores de CK1 de esta clase comprenden un núcleo de ciclo-3-pirid-4-il)imidazo[1,2-b]piridazina. En formas de realización preferidas de este aspecto, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 es de la clase que comprende un núcleo de ciclo-

3-pirid-4-il)imidazo[1,2-b]piridazina. En formas de realización preferidas adicionales, el inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención comprende un núcleo de azol o comprende un núcleo de ciclo-3-pirid-4-il)imidazo[1,2-b]piridazina. En formas de realización preferidas adicionales, el inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención tiene la fórmula general (1a), (1b), (2a) o (2b), donde X, Y, A, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, n, t, u, A', L, R^{1'}, R^{2'}, R^{3'}, R^{4'}, R^{5'}, Z, R⁸, R⁹, m, q, R¹², R¹³, A", B, L", R^a, R^b, R^c, R^d, R^{e1}, R^{e2}, R^f, R¹⁴, R¹⁵, X¹, Q¹, Q², Q³, Q⁴, Q⁵, Q⁶, Q⁷, Q⁸, Q⁹, Q¹⁰, Q¹¹, Q^a, Q^b, Q^c, Q^d, Q^e, Q^f, r y P son tal y como se ha definido anteriormente.

[0032] En formas de realización preferidas, el inhibidor de CK1 para el uso según la invención tiene la fórmula general (3) o isómeros o sales farmacéuticamente aceptables derivados, donde X², Q¹, Q², Q³, Q⁴, Q⁵ y Q⁶ son tal y como se ha definido anteriormente. Los inhibidores de CK1 de esta clase se conocen en la técnica *per se* y su estructura y su síntesis se describen con más detalle en, por ejemplo, la EP2949651. Cuando un inhibidor de Csk1 tiene la fórmula general (3), X² es preferiblemente -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH(Ph)- o -NH-, más preferiblemente -CH₂-; Q¹ es preferiblemente -CF₃, halógeno o C₁₋₆alquilo, más preferiblemente -CF₃; Q², Q³, Q⁴ y Q⁵ se seleccionan preferiblemente independientemente de entre H, halógeno y C₁₋₆alcoxi. Más preferiblemente, cuando un inhibidor de CK1 tiene la fórmula general (3), X² es -CH₂- y Q¹ es -CF₃.

[0033] Estructuras de inhibidores de CK1 ejemplares se muestran en la tabla 3. En formas de realización preferidas adicionales, la invención proporciona el inhibidor de CK1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 se selecciona del grupo que consiste en los compuestos A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, SR-3029, PF-670462 y PF-5006739. El compuesto O se conoce también como TA-01. Más preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 se selecciona del grupo que consiste en los compuestos A, B, C, D, E, F, G, H, O, SR-3029, PF-670462 y PF-5006739. Aún más preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 se selecciona del grupo que consiste en los compuestos A, D, F, G, H, O, SR-3029, PF-670462 y PF-5006739. Aún más preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 se selecciona del grupo que consiste en los compuestos A, D, F, G, H, SR-3029, PF-670462 y PF-5006739. Más preferiblemente, el inhibidor de quinasa de caseína 1 se selecciona del grupo que consiste en los compuestos A, D, F, G, H, SR-3029 y PF-5006739. También es altamente preferido que el inhibidor de quinasa de caseína 1 sea el compuesto D. También es altamente preferido que el inhibidor de quinasa de caseína 1 se seleccione del grupo que consiste en los compuestos A, B y H, más preferiblemente es el compuesto H.

[0034] En otras formas de realización, el inhibidor de CK1 para el uso según la invención es un anticuerpo inhibitorio, un oligonucleótido antisentido o un oligonucleótido que evita la expresión de CK1.

[0035] Las varias isoformas de quinasa de caseína 1 se conocen por tener diferentes funciones. En el conjunto de isoformas conocidas, la CK1δ y la CK1ε son dianas preferidas para los inhibidores de CK1 según la invención. Estas dos isoformas se conocen por estar estrechamente relacionadas entre sí. Por ejemplo, se pensaba que la CK1δ y la CK1ε eran generalmente redundantes en la longitud del ciclo circadiano y la estabilidad proteica, pero más tarde se reveló que tienen funciones ligeramente diferentes (Etchegaray JP et al., 2009, DOI:10.1128/MCB.00338-09). Debido a su importancia fisiológica, y la eficacia conocida de los inhibidores de CK1 para el uso en la presente invención, formas de realización preferidas de la invención proporcionan un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína inhibe al menos la quinasa de caseína 1δ o la quinasa de caseína 1ε. Opcionalmente, el inhibidor de quinasa de caseína es específico para la quinasa de caseína 1δ o para la quinasa de caseína 1ε. Además, en formas de realización más preferidas, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína al menos inhibe, y es opcionalmente específico para, la quinasa de caseína 1δ. En otras formas de realización más preferidas, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína al menos inhibe, y es opcionalmente específico para, la quinasa de caseína 1ε. En otras formas de realización la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína al menos inhibe, y es opcionalmente específico para, la quinasa de caseína 1α. En otras formas de realización, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína al menos inhibe, y es opcionalmente específico para, la quinasa de caseína 1β. En otras formas de realización, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, donde el inhibidor de quinasa de caseína al menos inhibe, y es opcionalmente específico para, la quinasa de caseína 1γ1, 1γ2 y/o 1γ3. Debe entenderse en este contexto que un inhibidor de CK1 es específico para una isoforma particular cuando al menos inhibe parcialmente esa isoforma particular. Preferiblemente, inhibe esa isoforma particular de manera más eficaz que otras isoformas.

[0036] Los inhibidores de CK1 adecuados para usar en la invención tienen preferiblemente un IC₅₀ sobre una quinasa de caseína de como mucho 650 nM, preferiblemente de como mucho 500 nM, más preferiblemente de como mucho 400 nM, aún más preferiblemente de como mucho 300 nM, todavía más preferiblemente de como mucho 250 nM,

5 todavía más preferiblemente de como mucho 200 nM, más preferiblemente de como mucho 100 nM. En formas de realización preferidas, el inhibidor de CK1 tiene un IC₅₀ sobre al menos la quinasa de caseína 1δ o la quinasa de caseína 1ε de como mucho 450 nM, más preferiblemente de como mucho 400 nM, aún más preferiblemente de como mucho 350 nM, todavía más preferiblemente de como mucho 200 nM, aún más preferiblemente todavía de como mucho 100 nM, más preferiblemente de como mucho 50 nM. En las formas de realización más preferidas, el inhibidor de CK1 tiene una IC₅₀ sobre la quinasa de caseína 1δ de como mucho 350 nM, preferiblemente como mucho 100 nM, más preferiblemente como mucho 35 nM, más preferiblemente como mucho 25 nM. Los valores IC₅₀ para CK1 se pueden determinar usando cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo según se describe en la WO2011051858, la WO2015119579, la EP2949651 o la US2005/0131012. Los ensayos adecuados pueden usar un sustrato de péptido y un método de lectura, por ejemplo usando el ensayo Kinase-Glo (Promega, parte # V672A).

Composición

15 [0037] En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende al menos un inhibidor de CK1, y un excipiente farmacéuticamente aceptable, para el uso según la invención. Se hace referencia a tal composición en este caso como a una composición para el uso según la invención. Las composiciones preferidas para el uso según la invención son las composiciones farmacéuticas. En formas de realización preferidas, la composición para el uso según la invención se formula para una administración oral, sublingual, parenteral, intravascular, intravenosa, subcutánea o transdérmica, opcionalmente para una administración por inhalación; preferiblemente para una administración oral. Más características y definiciones de los métodos de administración se han previsto en la sección sobre formulación y administración.

Formulación y administración

25 [0038] Las composiciones que comprenden los compuestos según se ha descrito anteriormente, se pueden preparar como una preparación medicinal o cosmética o en varios otros medios, tales como alimentos para seres humanos o animales, incluidos alimentos médicos y suplementos dietéticos. Un "alimento médico" es un producto que se destina a la gestión dietética específica de una enfermedad o condición para la que existen requisitos nutricionales distintivos. A modo de ejemplo, pero no de limitación, los alimentos médicos pueden incluir formulaciones de vitaminas y minerales suministradas a través de un tubo de alimentación (referido como administración enteral). Un "suplemento dietético" significará un producto que se destina a complementar la dieta humana y se proporciona típicamente en forma de una píldora, cápsula, pastilla o formulación similar. A modo de ejemplo, pero no de limitación, un suplemento dietético puede incluir uno o varios de los siguientes ingredientes: vitaminas, minerales, hierbas, extractos naturales; aminoácidos, sustancias dietéticas destinadas a complementar la dieta aumentando la toma dietética total, y concentrados, metabolitos, constituyentes, extractos o combinaciones de cualquiera de los anteriormente mencionados. También se pueden incorporar suplementos dietéticos en alimentos, incluidos, pero no limitados a, barras alimenticias, bebidas, polvos, cereales, alimentos cocinados, aditivos alimenticios y caramelos; u otros alimentos funcionales diseñados a promover la salud o a evitar o detener la progresión de una enfermedad degenerativa asociada a la expresión o la actividad de DUX4.

[0039] Así, las composiciones objeto pueden ser compuestas con otros materiales fisiológicamente aceptables que se puedan ingerir incluidos, pero no limitados a, alimentos. Además o alternativamente, las composiciones para el uso según se describe en este caso se pueden administrar por vía oral en combinación con la administración (separada) de alimentos.

40 [0040] Las composiciones se pueden administrar solas o en combinación con otros agentes farmacéuticos o cosméticos y se pueden combinar con un portador fisiológicamente aceptable de los mismos. En particular, los compuestos descritos aquí se pueden formular como composiciones farmacéuticas o cosméticas mediante la formulación con aditivos tales como excipientes, portadores y vehículos farmacéutica o fisiológicamente aceptables. Los excipientes, portadores y vehículos farmacéutica o fisiológicamente aceptables adecuados incluyen agentes de procesamiento y modificadores y potenciadores de administración de fármacos, tales como, por ejemplo, fosfato cálcico, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, dextrosa, hidroxipropil-P-ciclodextrina, polivinilpirrolidona, ceras de fusión baja, resinas de intercambio iónico y similares, al igual que combinaciones de cualesquiera dos o más de los mismos. Otros excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados se describen en "Remington's pharmaceutical Sciences", Mack Pub. Co., Nueva Jersey (1991) y "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia, 20^a edición (2003), 21^a edición (2005) y 22^a edición (2012).

[0041] Se sabe que muchas moléculas que inhiben a CK1 pueden inhibir también a p38. Las quinasas de proteínas activadas por mitógenos p38 son una clase de quinasas de proteínas activadas por mitógenos (MAPK) que son sensibles a estímulos estresantes, tales como citocinas, la irradiación ultravioleta, un choque térmico y un choque osmótico, y están implicados en la diferenciación celular, la secreción de citocinas, la apoptosis y la autofagia. Se sabe que la activación persistente de la vía MAPK p38 en las células satelitales musculares (células madre musculares) debido al envejecimiento afecta a la regeneración muscular. En formas de realización preferidas, el inhibidor de CK1 es también un inhibidor de p38.

[0042] Debido a la homología entre p38 y CK1, la invención proporciona también inhibidores de p38 para usar en el tratamiento de la FSHD, donde el inhibidor de p38 reduce la expresión de DUX4. De ahora en adelante se hace referencia a esto como a un inhibidor de p38 para el uso según la invención. Se conocen en la técnica inhibidores de p38. Excepto por la estructura molecular exacta, los términos y las características de uso según la invención son tal y como se define para los inhibidores de CK1 para el uso según la invención.

[0043] Ejemplos de inhibidores de p38 adecuados son ARRY-797 (CHEMBL1088750, CAS: 1036404-17-7), LOSMAPIMOD (CHEMBL1088752, CAS: 585543-15-3), AZD-7624 (CHEMBL9960, CAS: 1095004-78-6), DORAMAPIMOD (CHEMBL103667), NEFLAMAPIMOD (CHEMBL119385, CAS: 209410-46-8), TAK-715 (CHEMBL363648, CAS: 303162-79-0), TALMAPIMOD (CHEMBL514201, CAS: 309913-83-5), PAMAPIMOD (CHEMBL1090089, CAS: 449811-01-2), VX-702 (CHEMBL1090090, CAS: 745833-23-2), PH-797804 (CHEMBL1088751, CAS: 586379-66-0), BMS-582949 (CHEMBL1230065, CAS: 623152-17-0), PF-03715455 (CHEMBL1938400, CAS: 1056164-52-3), DILMAPIMOD (CHEMBL2103838, CAS: 444606-18-2), SEMAPIMOD (CHEMBL2107779, CAS: 352513-83-8), RALIMETINIB (CHEMBL2364626, CAS: 862505-00-8), FX-005 (CHEMBL3545216, CAS: 2016822-86-7), ACUMAPIMOD (CHEMBL3545226, CAS: 836683-15-9), KC-706 (CHEMBL3545282, CAS: 896462-15-0), PG-760564 (CHEMBL3545398), RWJ-67657 (CHEMBL190333, CAS: 215303-72-3), RO-3201195 (CHEMBL203567, CAS: 249937-52-8), AMG-548 (CHEMBL585902, CAS: 864249-60-5), SD-0006 (CHEMBL1090173), SCIO-323 (CHEMBL1614702, CAS: 309913-51-7), R-1487 (CHEMBL1766582, CAS: 449808-64-4), AZD-6703 (CHEMBL2031465, CAS: 1083381-65-0), SC-80036 (CHEMBL3544930), GSK-610677 (CHEMBL3544968, CAS: 2016840-17-6), LY-3007113 (CHEMBL3544998), LEO-15520 (CHEMBL3545074), AVE-9940 (CHEMBL3545117, CAS: 1201685-00-8), PS-516895 (CHEMBL3545139), TA-5493 (CHEMBL3545201, CAS: 1073666-93-9), PEXMETINIB (ARRY614) (CHEMBL3545297, CAS: 945614-12-0), SB-85635 (CHEMBL3545384) e inhibidores de CK1.

[0044] Composiciones para el uso según la invención se pueden fabricar por procesos bien conocidos en la técnica; por ejemplo, por medio de procesos de mezclado convencional, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización, que puede resultar en formulaciones liposómicas, coacervatos, emulsiones de aceite en agua, polvos nanoparticulados/microparticulados o cualquier otro estado o forma. Así, se pueden formular composiciones para el uso conforme a la invención de una manera convencional usando uno o más portadores fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y productos auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida.

[0045] Para la inyección, los inhibidores de CK1 y las composiciones para el uso según la invención se pueden formular en soluciones acuosas, preferiblemente en tampones compatibles fisiológicamente tales como la solución de Hanks, la solución de Ringer o una solución salina fisiológica. Para la administración transmucosa, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera que se va a penetrar. Tales penetrantes se conocen generalmente en la técnica.

[0046] Se pueden usar la administración oral y la parenteral cuando los inhibidores de CK1 y las composiciones para el uso se formulan combinándolos con portadores farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica o usándolos como un aditivo alimenticio. Tales estrategias permiten a los inhibidores de CK1 y las composiciones para el uso según la invención ser formulados como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones acuosas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por un sujeto que va a ser tratado. Las preparaciones o las preparaciones farmacológicas para el uso oral pueden prepararse con el uso de un excipiente sólido, opcionalmente triturando la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después de la adición de productos auxiliares adecuados, si se desea, para obtener núcleos de grageas o comprimidos. Los excipientes adecuados son, en particular, rellenos tales como azúcares, incluidos lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse agentes de desintegración, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una sal derivada

tal como alginato de sodio. Adicionalmente, se pueden preparar coformulaciones con potenciadores de absorción conocidos en la técnica.

5 [0047] Los núcleos de grageas están provistos con recubrimientos adecuados. Para este fin, pueden usarse soluciones de azúcar concentradas, que pueden contener opcionalmente goma arábica, talco, PVP, gel de carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, solución de laca, y solventes orgánicos adecuados o mezclas de solventes. Se pueden usar polimetacrilatos para proporcionar perfiles de liberación sensibles al pH para pasar el estómago. Se pueden añadir tintes o pigmentos a los recubrimientos de las grageas o los comprimidos para identificar o caracterizar diferentes combinaciones de dosis de inhibidor de CK1 activas.

10 [0048] Los inhibidores de CK1 y las composiciones que se pueden administrar por vía oral incluyen cápsulas duras hechas de gelatina, al igual que, cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden contener los ingredientes activos mezclados con un relleno tal como lactosa, ligantes tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizadores. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, pueden añadirse
15 estabilizadores. Todas las formulaciones para la administración oral deberían estar en dosificaciones adecuadas para tal administración.

[0049] Para la administración bucal, los inhibidores de CK1 y las composiciones para el uso según la invención se pueden administrar en forma de comprimidos o pastillas formulados de una manera convencional.

20 [0050] Los inhibidores de CK1 y las composiciones para el uso según la invención se pueden formular para la administración parenteral por inyección, por ejemplo, por inyección en bolo o infusión continua. De esta manera también es posible dirigirse a un órgano, tejido, sitio tumoral, sitio de inflamación, etc. particular. Las formulaciones para infecciones se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en un envase multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar tales formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleaginosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de
25 suspensión, estabilizantes y/o de dispersión. Se prefiere esta formulación porque permite dirigirse específicamente al tejido muscular.

[0051] Las composiciones para la administración parenteral incluyen soluciones acuosas de las composiciones en forma hidrosoluble. Adicionalmente, se pueden preparar suspensiones como suspensiones para inyección oleaginosas apropiadas. Los solventes o los vehículos lipofílicos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato etílico o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones para inyección acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizadores o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de las composiciones para permitir la preparación de
30 soluciones altamente concentradas.

35 [0052] Alternativamente, uno o más componentes de la composición pueden estar en forma de polvo para la constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua apirógena estéril, antes de usar.

[0053] Las composiciones para el uso según la invención también se pueden formular en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, con bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

40 [0054] Además de las formulaciones descritas previamente, los inhibidores de CK1 y las composiciones para el uso según la invención también se pueden formular como una preparación de depósito. Tales formulaciones de actuación prolongada se pueden administrar por implantación (por ejemplo subcutánea o intramuscularmente) o por inyección intramuscular. Así, por ejemplo, se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo como una emulsión en un aceite aceptable), o como parte de un implante sólido o semisólido que puede o no
45 autodegradarse en el cuerpo, o resinas de intercambio iónico, o uno o más componentes de la composición se pueden formular como derivados difícilmente solubles, por ejemplo, como una sal difícilmente soluble. Ejemplos de materiales poliméricos adecuados son conocidos por la persona experta en la materia e incluyen el PLGA y polilactonas tal como el ácido policaprico.

[0055] Las composiciones para el uso según la invención también pueden comprender portadores o excipientes sólidos o en fase de gel adecuados. Ejemplos de tales portadores o excipientes incluyen, pero de forma no limitativa, carbonato cálcico, fosfato cálcico, varios azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

5 [0056] Las composiciones para el uso según la invención también pueden estar comprendidas en un parche transdérmico. Los parches transdérmicos preferidos para el uso según la invención se seleccionan de entre un parche adhesivo con fármaco monocapa o un parche adhesivo con fármaco multicapa o un parche de almacenamiento o un parche matricial o un parche de vapor.

10 [0057] Las composiciones para el uso según la invención incluyen inhibidores de CK1 y composiciones donde los ingredientes activos están contenidos en una cantidad eficaz para conseguir sus fines pretendidos. Más específicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad de compuesto eficaz para evitar, estabilizar, aliviar, revertir o mejorar las causas o los síntomas de la enfermedad, o prolongar la supervivencia, la movilidad o la independencia del sujeto al que se está tratando. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz está en la capacidad de aquellas personas expertas en la materia, especialmente a la luz de la divulgación detallada provista aquí. Para cualquier inhibidor de CK1 y composición usados en la invención, la cantidad o dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular, por ejemplo como se ejemplifica aquí. La dosificación puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación pueden ser elegidas por el médico individual en vista de la condición del paciente. (Véase por ejemplo, Fingl, et al., 1975, en "The Pharmacological Basis of Therapeutics" Cap. 1 p. 1). La cantidad de inhibidores de CK1 y composiciones administrados será, por supuesto, dependiente del sujeto al que se está tratando, del peso del sujeto, la gravedad de la afección, la forma de administración y el juicio del médico prescriptor.

25 [0058] Se puede suministrar una composición para el uso según la invención de manera que un inhibidor de CK1 para el uso según la invención y uno o más de los otros componentes tal y como se define aquí estén en el mismo envase, ya sea en forma de solución, suspensión o polvo. Una composición para el uso según la invención también puede estar provista con todos los componentes proporcionados por separado entre sí, por ejemplo para ser mezclados entre sí antes de la administración, o para la administración por separado o secuencial. Varias opciones de embalaje son posibles y conocidas por aquellas personas expertas en la técnica, dependiendo, entre otros, de la vía y el mecanismo de administración. A la luz de los métodos de administración anteriormente descritos, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, o una composición para el uso según la invención, caracterizado por el hecho de que se administra por vía oral, por vía sublingual, por vía intravascular, por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía transdérmica u opcionalmente por inhalación; preferiblemente por vía oral.

35 [0059] Una "cantidad eficaz" de un inhibidor de CK1 o una composición es una cantidad que, cuando se administra a un sujeto, es suficiente para reducir o eliminar o uno o más síntomas de una enfermedad, o para retardar la progresión de uno o más síntomas de una enfermedad, o para reducir la gravedad de uno o más síntomas de una enfermedad, o para suprimir la manifestación de una enfermedad, o para suprimir la manifestación de síntomas adversos de una enfermedad. Una cantidad eficaz se puede dar en una o más administraciones.

40 [0060] La "cantidad eficaz" de eso se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped al que se le administra el ingrediente activo y el modo particular de administración. La dosis unitaria elegida se fabrica y administra normalmente para proporcionar una concentración final deseada del compuesto en la sangre.

45 [0061] La cantidad eficaz (es decir, la dosis diaria total eficaz), preferiblemente para adultos, se define aquí como una dosis diaria total de aproximadamente 0,01 a 2000 mg, o aproximadamente 0,01 a 1000 mg, o aproximadamente 0,01 a 500 mg, o aproximadamente 5 a 1000 mg, o aproximadamente 20 a 800 mg, o aproximadamente 30 a 800 mg o aproximadamente 30 a 700 mg, o aproximadamente 20 a 700 mg o aproximadamente 20 a 600 mg, o aproximadamente 30 a 600 mg, o aproximadamente 30 a 500 mg, aproximadamente 30 a 450 mg o aproximadamente 30 a 400 mg, o aproximadamente 30 a 350 mg o aproximadamente 30 a 300 mg o aproximadamente 50 a 600 mg, o aproximadamente 50 a 500 mg, o aproximadamente 50 a 450 mg, o aproximadamente 50 a 400 mg o aproximadamente 50 a 300 mg, o aproximadamente 50 a 250 mg, o aproximadamente 100 a 250 mg o aproximadamente 150 a 250 mg. En la forma de realización más preferida, la cantidad eficaz es aproximadamente 200 mg. En formas de realización preferidas, la invención proporciona un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, o una composición para el uso según la invención, caracterizado por el hecho de que se administra a un sujeto en una cantidad que varía de 0,1

a 1500 mg/día, preferiblemente de 0,1 a 1000 mg/día, más preferiblemente de 0,1 a 400 mg/día, todavía más preferiblemente de 0,25 a 150 mg/día, tal como aproximadamente 100 mg/día.

5 [0062] Alternativamente, la cantidad eficaz del compuesto, preferiblemente para adultos, se administra preferiblemente por kg de peso corporal. La dosis diaria total, preferiblemente para adultos, es por lo tanto de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg/kg, de aproximadamente 0,2 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg o de aproximadamente 0,3 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg o de aproximadamente 0,4 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg o de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg o de aproximadamente 0,3 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg o de aproximadamente 0,3 mg/kg a aproximadamente 13 mg/kg o de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 13 mg/kg o de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 11 mg/kg.

15 [0063] La dosis diaria total para niños es preferiblemente como mucho 200 mg. Más preferiblemente, la dosis diaria total es aproximadamente 0,1 a 200 mg, aproximadamente 1 a 200 mg, aproximadamente 5 a 200 mg, aproximadamente 20 a 200 mg, aproximadamente 40 a 200 mg o aproximadamente 50 a 200 mg. Preferiblemente, la dosis diaria total para niños es aproximadamente 0,1 a 150 mg, aproximadamente 1 a 150 mg, aproximadamente 5 a 150 mg, aproximadamente 10 a 150 mg, aproximadamente 40 a 150 mg o aproximadamente 50 a 150 mg. Más preferiblemente, la dosis diaria total es aproximadamente 5 a 100 mg, aproximadamente 10 a 100 mg, aproximadamente 20 a 100 mg, aproximadamente 30 a 100 mg, aproximadamente 40 a 100 mg o aproximadamente 50 a 100 mg. Aún más preferiblemente, la dosis diaria total es aproximadamente 5 a 75 mg, aproximadamente 10 a 75 mg, aproximadamente 20 a 75 mg, aproximadamente 30 a 75 mg, aproximadamente 40 a 75 mg o aproximadamente 50 a 75 mg.

20 [0064] Ejemplos alternativos de dosificaciones que se pueden usar son una cantidad eficaz de los compuestos para el uso según la invención en el rango de dosificación de aproximadamente 0,1 µg/kg a aproximadamente 300 mg/kg, o dentro de aproximadamente 1,0 µg/kg a aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 1,0 µg/kg a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 1,0 µg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 10,0 µg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 100 µg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 1,0 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 50 mg/kg a aproximadamente 150 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 100 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 150 mg/kg a aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 200 mg/kg a aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 250 mg/kg a aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal. Otras dosificaciones que se pueden usar son aproximadamente 0,01 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 75 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 125 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 150 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 175 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 225 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 275 mg/kg de peso corporal o aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal.

40 [0065] Los compuestos o las composiciones para el uso según la presente invención se pueden administrar en una dosis diaria única, o la dosificación diaria total se puede administrar en una dosificación dividida de dos, tres o cuatro veces diarias.

[0066] En una forma de realización preferida de la invención, se entiende que "sujeto", "individuo" o "paciente" es un organismo individual, preferiblemente un vertebrado, más preferiblemente un mamífero, aún más preferiblemente un primate y más preferiblemente un humano.

45 [0067] En otra forma de realización preferida de la invención, el humano es un adulto, por ejemplo una persona de 18 años o mayor. Además, se entiende aquí que el peso medio de una persona adulta es de 62 kg, aunque el peso medio se conoce por variar entre países. En otra forma de realización de la invención, el peso medio de una persona adulta está por lo tanto entre aproximadamente 50 - 90 kg. Se entiende aquí que la dosis eficaz tal y como se define aquí no está confinada a sujetos con un peso medio. Preferiblemente, el sujeto tiene un IMC (índice de masa corporal) de entre 50 18,0 a 40,0 kg/m², y más preferiblemente un IMC entre 18,0 a 30,0 kg/m².

[0068] Alternativamente, el sujeto que se va a tratar es un niño, por ejemplo una persona de 17 años o más joven. Además, el sujeto que se va a tratar puede ser una persona entre el nacimiento y la pubertad o entre la pubertad y la edad adulta. Se entiende aquí que la pubertad comienza para las mujeres a la edad de 10 -11 años y para los varones a la edad de 11 - 12 años. Además, el sujeto que se va a tratar puede ser un neonato (primeros 28 días después del nacimiento), un bebé (0-1 año), un niño pequeño (1-3 años), un preescolar (3-5 años); un niño en edad escolar (5-12 años) o un adolescente (13-18 años).

[0069] Para mantener un rango eficaz durante el tratamiento, el inhibidor de CK1 o la composición se puede administrar una vez al día, o una vez cada dos, tres, cuatro o cinco días. Sin embargo, preferiblemente, el compuesto se puede administrar al menos una vez al día. Por lo tanto, en una forma de realización preferida, la invención se refiere a un inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la invención, o una composición para el uso según la invención, caracterizado por el hecho de que se administra a un sujeto 4, 3, 2 o 1 veces al día o menos, preferiblemente 1 vez al día. La dosis diaria total se puede administrar como una dosis diaria única. Alternativamente, el compuesto se administra al menos dos veces diarias. Por lo tanto, el compuesto tal y como se define aquí se puede administrar una vez, dos, tres, cuatro o cinco veces al día. Como tal, la dosis diaria total se puede dividir sobre las varias dosis (unidades) que dan como resultado la administración de la dosis diaria total tal y como se define aquí. En una forma de realización preferida, el compuesto se administra dos veces diarias. Se entiende además que los términos "dos veces diarias", "bid" y "*bis in die*" se pueden usar de manera intercambiable aquí.

[0070] En una forma de realización preferida, la dosis diaria total se divide en varias dosis al día. Estas dosis separadas pueden diferir en cantidad. Por ejemplo, para cada dosis diaria total, la primera dosis puede tener una cantidad mayor del compuesto que la segunda dosis o viceversa. Sin embargo, preferiblemente, el compuesto se administra en dosis similares o iguales. Por lo tanto, en una forma de realización más preferida, el compuesto se administra dos veces diarias en dos dosis similares o iguales.

[0071] En otra forma de realización preferida de la invención, la dosis diaria total del compuesto tal y como se ha definido aquí anteriormente se administra en al menos dos dosis separadas. El intervalo entre la administración de las al menos dos dosis separadas es al menos aproximadamente 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 horas, preferiblemente el intervalo entre las al menos dos dosis separadas es al menos aproximadamente 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 horas y más preferiblemente el intervalo entre las al menos dos dosis separadas es al menos aproximadamente 8, 9, 10, 11 o 12 horas.

Método

[0072] Un aspecto de la invención proporciona un método *in vitro* o *ex vivo* para reducir la expresión de DUX4, donde el método comprende el paso de poner en contacto una célula con un inhibidor de CK1 tal y como se ha definido anteriormente aquí, o con una composición tal y como se ha definido anteriormente aquí. Los métodos preferidos comprenden poner en contacto una célula con una composición de inhibidor de CK1 tal y como se ha definido anteriormente aquí. En el contexto de la invención, poner en contacto una célula con un inhibidor de CK1 o una composición puede comprender la adición de tal inhibidor de CK1 o composición a un medio donde se cultiva una célula. Poner en contacto una célula con un inhibidor de CK1 o una composición puede comprender también la adición de tal inhibidor de CK1 o composición a un medio, tampón o solución donde está suspendida una célula, o que cubre una célula. Otros métodos preferidos de contacto de una célula comprenden la inyección de una célula con un inhibidor de CK1 o una composición, o la exposición de una célula a un material que comprende un inhibidor de CK1 o una composición según la invención. Métodos adicionales para la administración se definen en otra parte en este documento. Las células preferidas son células conocidas por expresar DUX4, células que se sospecha que expresan DUX4 o células conocidas por estar afectadas por una enfermedad o condición tal y como se ha definido anteriormente aquí.

[0073] En una forma de realización de este aspecto, el método es un método *in vitro*. En otra forma de realización de este aspecto, el método es un método *ex vivo*.

[0074] En las formas de realización de este aspecto, la célula puede ser una célula procedente de una muestra obtenida de un sujeto. Tal muestra puede ser una muestra que ha sido obtenida previamente de un sujeto. En las formas de realización de este aspecto, las muestras se pueden haber obtenido previamente de un sujeto humano. En las formas de realización de este aspecto, las muestras se pueden haber obtenido de un sujeto no humano. La obtención de la muestra no es parte del método según la invención.

Definiciones Generales

5 [0075] En este documento y en sus reivindicaciones, el verbo "comprender" y sus conjugaciones se usa en su sentido no limitativo para referirse a que los artículos que siguen a la palabra están incluidos, pero los artículos no específicamente mencionados no están excluidos. Además, el verbo "consistir" se puede sustituir por "consistir esencialmente en" refiriéndose a que una combinación o una composición tal y como se define aquí puede comprender componente(s) adicional(es) a aquellos específicamente identificados, donde dicho(s) componente(s) adicional(es) no alteran la característica única de la invención. Además, la referencia a un elemento por el artículo indefinido "una" o "un" no excluye la posibilidad de que estén presentes más de una unidad del elemento, a menos que el contexto requiera claramente que haya una unidad y solo una unidad de los elementos. Así, el artículo indefinido "una" o "un" significa normalmente "al menos uno/a".

[0076] Cuando la persona experta entiende que una fórmula estructural o un nombre químico tiene centros quirales, pero no se indica ninguna quiralidad, para cada centro quiral se hace referencia individual a cualquiera de los tres de la mezcla racémica, el enantiómero R puro y el enantiómero S puro.

15 [0077] Siempre que se discute un parámetro de una sustancia en el contexto de esta invención, se supone que a menos que se especifique lo contrario, se determina, mide o manifiesta el parámetro bajo condiciones fisiológicas. Una persona experta en la materia conoce las condiciones fisiológicas, y comprenden sistemas de solventes acuosos, presión atmosférica, valores de pH entre 6 y 8, una temperatura que varía de temperatura ambiente a aproximadamente 37 °C (de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 40 °C), y una concentración adecuada de sales tampón u otros componentes.

20 [0078] El uso de una sustancia como un medicamento según se describe en este documento puede también ser interpretado como el uso de dicha sustancia en la producción de un medicamento. De forma similar, siempre que una sustancia se use para un tratamiento o como un medicamento, también puede usarse para la producción de un medicamento para un tratamiento. Los productos para el uso como un medicamento descritos aquí se pueden usar en métodos de tratamientos, donde tales métodos de tratamiento comprenden la administración del producto para el uso.

25 Los inhibidores de CK1 o las composiciones según esta invención son preferiblemente para usar en métodos o usos según esta invención.

[0079] En toda esta solicitud, la expresión se considera que es la transcripción de un gen en ARNm funcional, conduciendo a un polipéptido tal como una enzima o un factor de transcripción o, por ejemplo, el polipéptido DUX4. Un polipéptido puede ejercer un efecto o tener una actividad. En este contexto, la expresión aumentada o disminuida de un polipéptido se puede considerar un nivel aumentado o disminuido de ARNm que codifica dicho polipéptido, un nivel aumentado o disminuido o una cantidad de moléculas de polipéptido, o una actividad total aumentada o disminuida de dichas moléculas de polipéptido. Preferiblemente, una expresión aumentada o disminuida de un polipéptido resulta en una actividad aumentada o disminuida de dicho polipéptido, respectivamente, que puede estar causada por niveles o cantidades aumentados o disminuidos de moléculas de polipéptido. Más preferiblemente, una reducción de la expresión de DUX4 es una reducción de la transcripción de un gen DUX4, la desestabilización o la degradación de ARNm de DUX4, la reducción de la cantidad de moléculas de polipéptido DUX4, la reducción de la actividad molecular de polipéptidos DUX4, la desestabilización o la degradación de polipéptido DUX4 o combinaciones de las mismas. Un ARNm desestabilizado lleva a una expresión más baja de su polipéptido codificado, posiblemente no puede llevar a tal expresión. Un ARNm degradado se destruye y no puede llevar a la expresión de su polipéptido codificado. Un polipéptido desestabilizado ejerce menos de un efecto o tiene una actividad más baja que el mismo polipéptido que no se ha desestabilizado, posiblemente no ejerce ningún efecto o no tiene actividad. Un polipéptido desestabilizado puede estar desnaturalizado o mal plegado. Un polipéptido degradado se destruye y no ejerce un efecto o no tiene una actividad.

45 [0080] En el contexto de esta invención, una reducción o un aumento de un parámetro que se va a evaluar significa un cambio de al menos un 5% del valor que corresponde a ese parámetro. Más preferiblemente, una reducción o un aumento del valor significa un cambio de al menos un 10%, aún más preferiblemente al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 70%, al menos un 90% o un 100%. En este último caso, puede darse el caso de que ya no haya un valor detectable asociado al parámetro.

50 [0081] La palabra "alrededor de" o "aproximadamente" cuando se usa en asociación con un valor numérico (por ejemplo alrededor de 10) significa preferiblemente que el valor puede ser el valor dado (de 10) más o menos un 1% del valor.

[0082] Cada forma de realización según se identifica aquí se pueden combinar a menos que se indique lo contrario. La invención se ha descrito anteriormente con referencia a un número de formas de realización. Una persona experta podría visualizar variaciones triviales para algunos elementos de las formas de realización. Estas se incluyen en el alcance de protección tal y como se define en las reivindicaciones anexas.

5 Breve descripción de los dibujos

[0083]

Figura 1 - (A): ilustración de una tinción inmunocitoquímica de DUX4 en miotubos FSHD de 2 donantes diferentes después de 3 días de diferenciación. Las agrupaciones de núcleos positivas para DUX4 están claramente teñidas, mientras que los núcleos negativos para DUX4 no están teñidos. Los histogramas muestran la intensidad de las señales inmunofluorescentes (intensidad en aumento en el eje x) después de teñir con el anticuerpo de DUX4 y secundario (parte superior) o el anticuerpo secundario solo (parte inferior); las flechas superiores muestran la señal de fondo (flecha hacia la izquierda) o la señal específica de DUX4 (flecha hacia la derecha); (B): ilustración de un miotubo FSHD teñido para DUX4 después de 3 días de diferenciación. El patrón punteado resulta de los ajustes de filtro aplicados para agotar el fondo del control del anticuerpo secundario. Nótese que los ajustes umbrales prohíben la detección de la señal de DUX4 más débil en los núcleos más distantes del núcleo centinela.

Figura 2 - el análisis de imagen basado en *scripts* incluye la identificación de núcleos, la identificación de miotubos, la detección de núcleos dentro o fuera de los bordes de los miotubos (usada para calcular el índice de fusión), núcleos y agrupaciones positivos para DUX4, área de los miotubos, ancho de los miotubos y longitud de esqueleto de los miotubos.

Figura 3 - Validación del formato de ensayo de cribado primario en formato de 384 pocillos. Se muestran tres experimentos independientes, que ilustran la ventana de ensayo obtenida usando una cuantificación basada en *scripts* del número de núcleos que expresan DUX4 en miotubos primarios en diferenciación después de 3 días en el medio de diferenciación. La ventana de ensayo está definida por la señal de DUX4 y la señal de fondo del anticuerpo secundario (que representa la señal en total ausencia de DUX4).

Figura 4 - (A): representación esquemática del protocolo del ensayo de cribado. Se sembraron los mioblastos el día -1 y se cambió el medio a medio de diferenciación el día cero. Las células se dejaron diferenciar durante 3 días. Se añadieron compuestos 15h antes de la fijación. (B): correlación de resultados duplicados del cribado primario de una biblioteca de compuestos anotados usando 2 lecturas diferentes para la expresión de DUX4 (número de núcleos positivos para DUX4 e intensidad de DUX4) y 2 lecturas diferentes para controlar la toxicidad potencial (índice de fusión, recuento de núcleos). Los umbrales de llamada de candidatos potenciales (alta astringencia) se indican mediante una línea discontinua, y los cuadrantes derechos superiores contienen los compuestos candidatos potenciales para las diferentes lecturas. Los ejes de los diagramas de dispersión son simétricos.

Figura 5 - Curvas de concentración-respuesta para varios inhibidores de CK1 para las diferentes lecturas. El recuento de núcleos DUX4, la intensidad de DUX4, el índice de fusión y el recuento total de núcleos se midieron después de 15 horas de exposición a compuestos. (A): resultados para PF-670462; (B): resultados para PF-5006739; (C): resultados para el compuesto C; (D): resultados para el compuesto D; (E): resultados para el compuesto E; (F): resultados para el compuesto F; (G): resultados para el compuesto G; las fórmulas estructurales se muestran en el ejemplo 5.

Figura 6 - (A): representación esquemática del protocolo de ensayo. Los mioblastos se sembraron el día -1 y se cambió el medio a medio de diferenciación el día cero. Se dejó que las células se diferenciaron durante 3 días. Los compuestos se añadieron durante 15h o 72h antes de la fijación. Para el tratamiento de 15h, se administran compuestos cuando la diferenciación ya ha progresado significativamente. En el caso del tratamiento de 72h, los compuestos se incubaron durante la fase de diferenciación completa. Los otros paneles muestran las curvas de concentración-respuesta para unos inhibidores de BET (B) o para agonistas del adrenorreceptor beta2 (C, D, E, F) para las diferentes lecturas. El recuento de núcleos DUX4, la intensidad de DUX4, el índice de fusión y el recuento de núcleos totales se evaluaron después de 15h o después de 72h de tratamiento. (B): (+)JQ1; (C): formoterol; (D): salbutamol; (E): salmeterol; (F): micrografías de miotubos después de 72 horas en el medio de diferenciación mientras están expuestos a un agonista del adrenorreceptor beta2 (formoterol); (G): resultados para la exposición tanto de 15 horas como de 72 horas a un inhibidor de CK1 (PF-670462).

Ejemplos

Ejemplo 1 – las células musculares FSHD primarias expresan DUX4 en una fracción pequeña de mionúcleos

[0084] Los inventores tuvieron éxito en el establecimiento de un método de detección de DUX4 sensible en miotubos primarios y lo usaron para construir un ensayo de alto contenido para la evaluación cuantitativa de la expresión

endógena de DUX4. El método se desarrolló en una plataforma de cribado fenotípico validada para la detección automatizada y la cuantificación de la expresión endógena de DUX4. Los mecanismos subyacentes a la represión de DUX4 pueden implicar muchas proteínas que interactúan, lo que favorece tal enfoque fenotípico. Además, es independiente de la vía/la diana (y por tanto no dirigido por una hipótesis) y proporciona información adicional sobre la toxicidad celular o la interferencia con la diferenciación muscular.

[0085] Se ha informado de diferencias significativas en los niveles de expresión de DUX4 entre células obtenidas de distintos donantes. Por lo tanto, las líneas celulares musculares derivadas de distintos donantes se caracterizaron a fondo y se seleccionó una línea celular óptima para el cribado primario. La tinción MyoD de los mioblastos confirmaron una miogenicidad sólida de todas las líneas celulares (Rudnicki et al., 1993; cell 75(7):1351-9). Después de la optimización de los parámetros, se estableció un procedimiento de detección de DUX4 que podría aplicarse en un ensayo de cribado que resultó en el patrón de DUX4 esperado en las células FSHD, pero no en miotubos de donantes sanos. Como se muestra en la figura 1, esto incluía una localización nuclear de DUX4, con solo pocas células positivas, y un gradiente de intensidad a través de agrupaciones nucleares positivas para DUX4, como describen también Rickard et al. (2015, DOI: 10.1093/hmg/ddv315).

15 **Ejemplo 2 - ensayo de cribado para identificar la represión de DUX4**

[0086] Se desarrolló una lectura de ensayo cuantitativo basada en el análisis de imagen basado en *scripts*. Las células se tiñeron según el ejemplo 1, usando también DAPI para detectar mionúcleos y un anticuerpo contra la cadena pesada de miosina (MHC) para visualizar la formación de miotubos. Para analizar las imágenes, se desarrolló un *script* automatizado, permitiendo la detección de núcleos, bordes de miotubos y señales de DUX4, donde el *script* detecta también artefactos para reducir señales de falsos positivos. El *script* permitió múltiples lecturas validadas que incluían el número de núcleos y agrupaciones de núcleos positivos para DUX4, el índice de fusión, el área de los miotubos, el ancho de los miotubos y la longitud del esqueleto de los miotubos (véase la figura 2). Adicionalmente, el recuento de núcleos totales se incluyó como una medida de pérdida celular o toxicidad del compuesto. El *script* se validó evaluando la expresión endógena de DUX4 en los miotubos primarios, y los resultados estaban en línea con los valores de la literatura, donde el número de núcleos que expresan DUX4 es < 0,5%.

[0087] El ensayo se ha madurado adicionalmente para hacerlo adecuado para fines de cribado. La calidad del ensayo fue dependiente de la línea celular donadora. El número de núcleos positivos para DUX4 fue característico para cada línea celular donadora, y fue consistente entre experimentos. Las líneas celulares con un mejor rendimiento en cuanto a número de núcleos que expresan DUX4, reproducibilidad y factor Z se han seleccionado para la miniaturización del ensayo a un formato de 384 pocillos, permitiendo así un cribado automatizado de bibliotecas de compuestos grandes. Una línea celular con 2 repeticiones D4Z4 se seleccionó para el cribado primario, mientras que una línea celular con 6 repeticiones D4Z4 se seleccionó para una validación posterior. El ensayo de cribado primario tenía un factor Z de 0,6, que representa un ensayo excelente (Zhang et al., 1999; doi:10.1177/108705719900400206; véase la figura 3).

[0088] Una biblioteca de compuestos que contiene aproximadamente 5000 compuestos anotados se cribó en el ensayo de alto contenido. Para este fin, se sembraron mioblastos primarios en placas de 384 pocillos, después de lo cual se sustituyó el medio de cultivo con medio de diferenciación. Después de 3 días de diferenciación, se trataron las células con compuestos de la biblioteca (por duplicado en diferentes placas de cribado) durante 15h, después de lo cual se fijaron y se tiñeron con anticuerpos contra DUX4, anticuerpos contra la cadena pesada de miosina (MHC) y con DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol). El análisis basado en *scripts* proporcionó lecturas para la expresión de DUX4 (recuento de núcleos positivos para DUX4 o intensidad de DUX4) y para la toxicidad potencial (índice de fusión y recuento de núcleos). Los resultados se muestran en la figura 4. La mayoría de los aproximadamente 200 candidatos potenciales se confirmaron en un experimento usando el mismo ensayo y 5 réplicas. Estos compuestos se seleccionaron para un perfilado de concentración-respuesta adicional.

[0089] La mitad de estos candidatos potenciales se validaron usando una RT-PCR. Basándose en la expresión de ARNm de DUX4 y los genes diana aguas abajo Trim43 y ZScan4, usando los genes constitutivos hGUSB, GAPDH, hRPL27 como una referencia, se observó una correlación muy buena entre la represión de DUX4 en el ensayo inmunocitoquímico (nivel de proteína) y el ensayo de RT-PCR (nivel de ARNm). Esto sugiere que la gran mayoría de los candidatos potenciales tienen un modo de acción aguas arriba, es decir, actúan inhibiendo la expresión de DUX4 (en lugar de acelerando la degradación de DUX4).

[0090] Las RT-PCR se realizaron como describen Lemmers et al., (2010, DOI: 10.1126/science.1189044) usando oligonucleótidos pedidos a Applied Biosystems (Foster City, EE.UU.), posiblemente como parte de kits de ensayo (para

hGAPDH (app): ID ensayo Hs02758991_g1; para hTRIM43 (app): ID ensayo Hs00299174_m1; para hMYH2_tv1-2 (app): ID ensayo Hs00430042_m1). Otros oligonucleótidos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1 - cebadores y sondas para usar en PCR

Nombre	Secuencia	SEQ ID NO:
directo de hDUX4	CCCGGCTGACGTGCAA	1
inverso de hDUX4	AGCCAGAATTTACGGAAGAAC	2
sonda de hDUX4	AGCTCGCTGGCCTCTCTGTGCC	3
directo de hGUSB	TTCCCTCCAGCTTCAATGACA	4
inverso de hGUSB	CCACACCCAGCCGACAA	5
sonda de hGUSB	AGGACTGGCGTCTGCGGCA	6
directo de hRPL27	TGTCCTGGCTGGACGCTACT	7
inverso de hRPL27	GAGGTGCCATCATCAATGTTCTT	8
sonda de hRPL27	CGGACGCAAAGCTGTCATCGT	9
directo de hZSCAN4	AGGCAGGAATTGCAAAGACTTT	10
inverso de hZSCAN4	AATTCATCCTTGCTGTGCTTTT	11
sonda de hZSCAN4	TAGGATCTTTCACTCATGGCTGCAACCA	12
directo de hMYOG	GCTCACGGCTGACCCTACA	13
inverso de hMYOG	CACTGTGATGCTGTCCACGAT	14
sonda de hMYOG	CCCACAACCTGCACTCCCTCACCT	15

Ejemplo 3 – los inhibidores de CK1 actúan como represores de DUX4

5 [0091] El ensayo validado se usó para el cribado de una biblioteca de compuestos anotados con aproximadamente 5000 compuestos, para identificar mecanismos de acción novedosos para la represión de DUX4. Esta biblioteca
 10 contenía compuestos con farmacología anotada, que no solo implicaba la farmacología primaria de los compuestos, sino también la polifarmacología potencial conocida. El cribado primario consiguió múltiples candidatos potenciales, identificando compuestos que redujeron el número de núcleos positivos para DUX4. Se perfilaron además los
 15 candidatos potenciales estableciendo curvas de concentración-respuesta. Aplicando un enfoque bioinformático sobre el conjunto de datos de cribado y perfilado, los inventores descubrieron sorprendentemente que los compuestos con una anotación de CK1 estaban enriquecidos significativamente en la población de compuestos fenotípicamente activos, es decir, en el grupo de compuestos que inducen una represión de DUX4. De manera interesante, ninguno de los compuestos originales con una anotación de CK1 tenía CK1 como su diana farmacológica primaria, sino que cada uno tenía otras dianas de alta potencia de otras familias de proteínas. Así, el análisis bioinformático fue esencial en la identificación de la asociación entre CK1 y la represión de DUX4.

[0092] Los compuestos perfilados se anotaron como fenotípicamente activos cuando mostraron un efecto dependiente de la concentración sobre DUX4 (inhibición o activación). De estos, los compuestos que mostraron una inhibición del índice de fusión o del número total de núcleos de más de un 10% se excluyeron, a menos que el efecto sobre estas lecturas fuera al menos 5 veces menos potente que el efecto sobre DUX4. Como tal, de los 4790 compuestos únicos, 188 compuestos se clasificaron como fenotípicamente activos, 162 de los cuales eran inhibidores DUX4.

[0093] Para los compuestos fenotípicamente activos, las anotaciones de dianas originales se complementaron con información adicional que está disponible públicamente (literatura, solicitudes de patentes, bases de datos de proveedores, etc.). Todas las proteínas humanas, y los ortólogos no humanos donde se puede establecer un mapeo respecto al proteoma humano, fueron consideradas. Cada uno de los 4790 compuestos se evaluó entonces contra estas anotaciones de dianas, clasificando la diana como activa o inactiva para un compuesto dado. Para los compuestos fenotípicamente activos, las dianas anotadas se clasificaron como activas si la potencia del compuesto sobre la diana era ≤ 10 veces la potencia fenotípica, de lo contrario, la diana se clasificó como inactiva. Este análisis reveló que aproximadamente 201 dianas estaban asociadas con una actividad fenotípica con una tasa de descubrimiento falso de 0,05. Se detectó un enriquecimiento de compuestos anotados como inhibidores de CK1 en el grupo de los compuestos fenotípicamente activos.

Ejemplo 4 - se expresan isoformas de CK1 en las células musculares primarias FSHD

[0094] Para confirmar la expresión de dianas en células musculares tanto sanas como FSHD, se continuó con un enfoque de secuenciación de ARN para determinar la expresión de las diferentes isoformas de CK1 en miotubos primarios de 4 donantes con FSHD diferentes y de 4 donantes sanos diferentes. Los resultados muestran la expresión de todas las isoformas de CK1, tanto en las células musculares FSHD como en las sanas. La máxima expresión es la de CK1 α , CK1 δ y CK1 ϵ (véase la tabla 2).

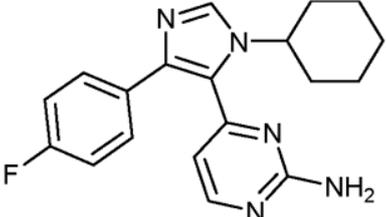
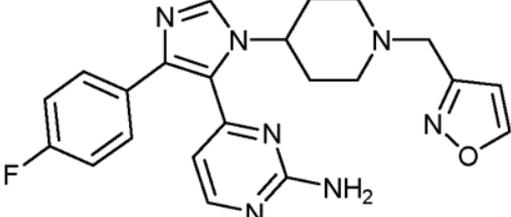
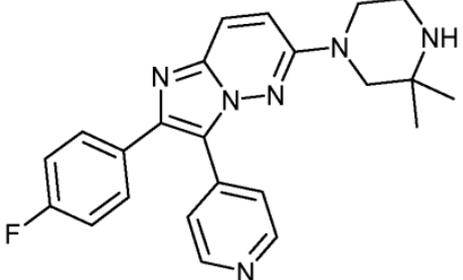
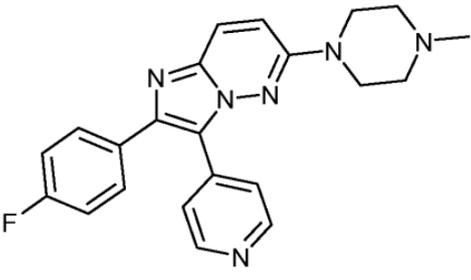
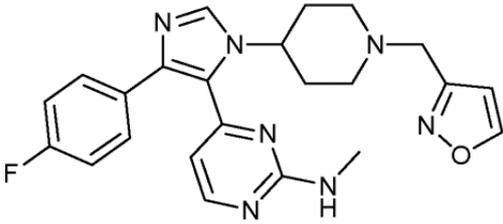
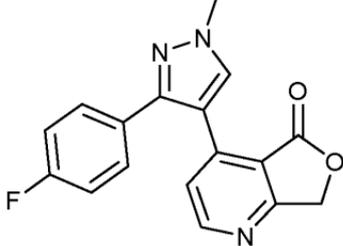
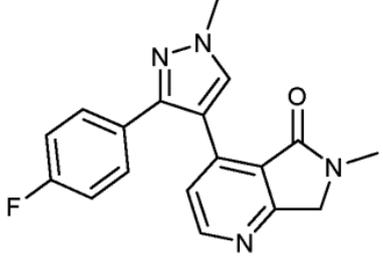
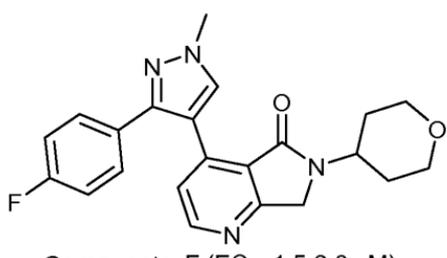
Tabla 2 - expresión de las isoformas de quinasa de caseína 1 en 4 líneas celulares primarias sanas y en 4 líneas celulares primarias FSHD determinada por secuenciación de ARN de miotubos diferenciados

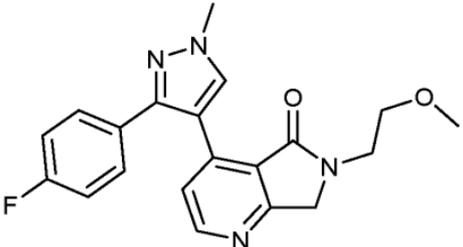
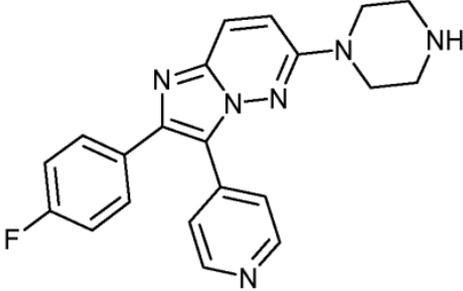
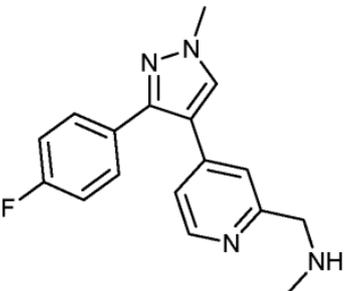
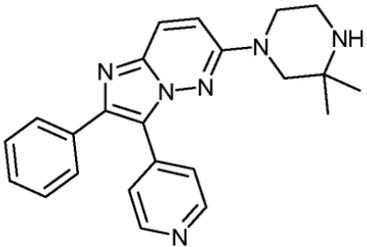
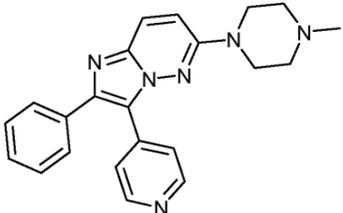
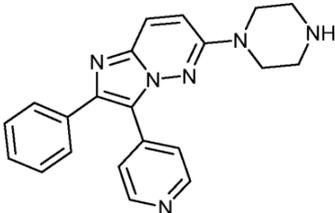
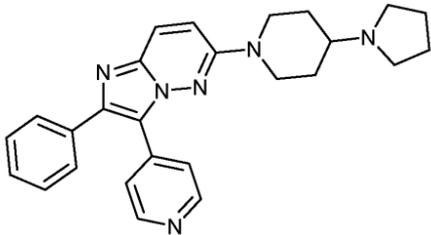
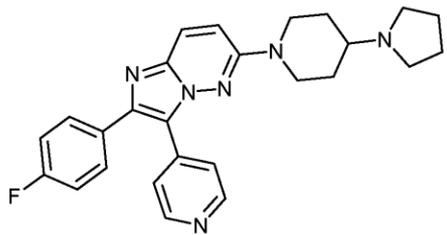
	CSNK1A1	CSNK1D	CSNK1E	CSNK1G1	CSNK1G2	CSNK1G3
FSHD	134	159,1	160,1	49,9	81,8	37,9
FSHD	122,5	138,4	136,8	4,2	79,1	32,7
FSHD	176,7	170,6	120,5	69,8	65,8	41,3
FSHD	118,2	134	105,6	41,8	63,5	38,1
Sanas	138,9	168,5	188	45,8	75,9	35,8
Sanas	143,3	174,1	200,7	49,6	81,8	36,3
Sanas	139,2	192,8	176,1	51,9	71,4	33,2
Sanas	119,1	132,4	122,4	40,6	65,9	40,1

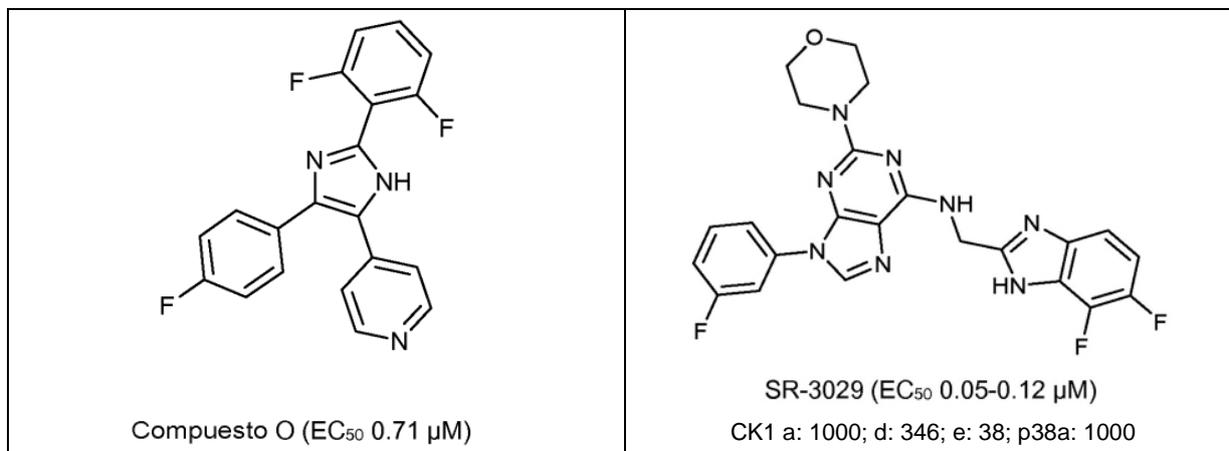
Ejemplo 5 - la inhibición de CK1 reprime DUX4

[0095] La represión de DUX4 de inhibidores de CK1 se analizó siguiendo el protocolo del ejemplo 2, ilustrado en la figura 4A. La tabla 3 muestra las estructuras de los inhibidores de CK1 que se usan en la figura 5. Los compuestos se incubaron con células FSHD primarias durante 15 horas, como se indica mediante la flecha en la figura 4A. Los resultados se muestran en la figura 5, mientras que la tabla 3 muestra los valores de las concentraciones eficaces medias (EC_{50}). La tabla 3 también muestra determinados valores IC_{50} en nM para CK1 α , CK1 δ , CK1 ϵ y p38 α , denominados CK1 a, d, e y p38a, respectivamente.

Tabla 3 - Inhibidores de CK1 ejemplares para el uso según la invención, junto con las concentraciones eficaces medias (EC_{50})

 <p>PF-670462 (EC_{50} 0.43 μM) CK1 a: 320; d: 29,1; e: 99,8; p38a: 32,4</p>	 <p>PF-5006739 (EC_{50} 0.31 μM) CK1 a: 123; d: 19,8; e: 26,8; p38a: 74,3</p>
 <p>Compuesto A (EC_{50} <0.04-0.05 μM) CK1 a: 29,5; d: 18,5; e: 12,4; p38a: 13,2</p>	 <p>Compuesto B (EC_{50} 2 μM)</p>
 <p>Compuesto C (EC_{50} 1.1-1.4 μM)</p>	 <p>Compuesto D (EC_{50} 1.4 μM) CK1 a: 644; d: 33,1; e: 51,6; p38a: 569</p>
 <p>Compuesto E (EC_{50} 1.9-3.1 μM) CK1 a: 592; d: 30,7; e: 83,6; p38a: 1110</p>	 <p>Compuesto F (EC_{50} 1.5-2.6 μM) CK1 a: 561; d: 18; e: 72,4; p38a: 677</p>

 <p>Compuesto G (EC₅₀ 1.7-4.5 μM) CK1 a: 2590; d: 41,8; e: 92,1; p38a: 712</p>	 <p>Compuesto H (EC₅₀ 0.01-0.046 μM) CK1 a: 22; d: 16,5; e: 9,41; p38a: 14,8</p>
 <p>Compuesto I (EC₅₀ 3.1-5.5 μM) CK1 a: 1760; d: 57,7; e: 89; p38a: 3070</p>	 <p>Compuesto J</p>
 <p>Compuesto K</p>	 <p>Compuesto L</p>
 <p>Compuesto M</p>	 <p>Compuesto N</p>



[0096] Varios de estos compuestos también se evaluaron *in vivo* en un modelo de ratón. El modelo estaba basado en mioblastos humanos afectados por FSHD injertados sobre un músculo de muslo de ratón. Luego estos mioblastos FSHD humanos se fusionaron y se desarrollaron en miotubos, que producen DUX4. Este modelo se aproxima a la biología natural de la FSHD todo lo posible usando células musculares afectadas por FSHD primarias. Las células enfermas se injertan en un muslo y los mioblastos humanos sanos en el otro muslo, de modo que cada ratón sirve como su propio control. Los compuestos también mostraron represión de DUX4 en estos modelos *in vivo*, como se estableció por examen RT-PCR e histológico.

Ejemplo de referencia 6 - los inhibidores de CK1 no inhiben la fusión de miotubos

[0097] Debido a que la expresión de DUX4 aumenta con la diferenciación *in vitro* de mioblastos FSHD en proliferación en miotubos multinucleados (Balog et al., 2015 Epigenetics. 2015; 10(12):1133-42), la inhibición de la diferenciación puede llevar a un efecto falso positivo sobre la represión de DUX4.

[0098] Los inhibidores de dominio Bromo- y Extra-Terminal (BET) tales como el inhibidor no selectivo (+)JQ1 o el inhibidor selectivo de BRD4 RVX-208 pueden inhibir la expresión de DUX4 en los cultivos de miotubos diferenciados inmortalizados (véase la US2015087636A1). Allí se mostró que, cuando se expusieron miotubos en diferenciación a (+)JQ1 al principio del proceso de diferenciación, es decir, desde el momento en el que el medio de cultivo se cambió al medio de diferenciación, la expresión de la cadena pesada de miosina (MYH2, un marcador de diferenciación) disminuyó, lo que sugiere que el inhibidor también tuvo un impacto en el proceso de diferenciación. Tanto (+)JQ1 como RVX-208 se han evaluado en el ensayo fenotípico descrito en esta solicitud. También se ha informado de que los agonistas del adrenoceptor beta2 inhiben la expresión de DUX4 en miotubos en diferenciación (Campbell et al., 2017). Evaluamos el efecto tanto de inhibidores de BET como de agonistas del adrenoceptor beta2 sobre el proceso de fusión y lo comparamos con el efecto de un inhibidor de CK1.

[0099] La figura 6A muestra la disposición experimental del ejemplo 2. Los compuestos se administran o 15h antes de la fijación, parecido al protocolo de cribado original, o 72h antes de la fijación (flecha gris). En este último caso, los compuestos están presentes durante todo el proceso de diferenciación. Los inventores descubrieron que la administración temprana del inhibidor de BET (+)JQ1 (figura 6B) y los agonistas del adrenoceptor beta2 (figuras 6C, D, E) inhiben el proceso de fusión y la diferenciación de mioblastos en miotubos. La figura 6F muestra que no se puede observar ninguna formación de miotubos después del tratamiento con un agonista del adrenoceptor beta2 (formoterol). Esto lleva a una lectura de falso positivo cuando se evalúa la señal de DUX4. El inhibidor de BET RVX-208 no mostró ningún efecto sobre la expresión de DUX4, independientemente del tiempo de tratamiento (no se muestra). Aunque el índice de fusión no parece verse afectado en el punto temporal de 15h, también con este tiempo de tratamiento se vio afectado por estos compuestos el proceso de fusión de miotubos como se determina por la RT-PCR que muestra la inhibición de la expresión del marcador de diferenciación tardía cadena pesada de miosina (Myh; no se muestra; los cebadores fueron los del kit de hMYH2 descrito anteriormente).

[0100] Como se ilustra en el ejemplo 5, la inhibición de CK1 inhibe a DUX4. Este efecto ocurre sin inhibir la fusión de miotubos, ni después de 15h ni después de 72h de tratamiento con compuesto (figura 6G).

Ejemplo 7 - perfil de inhibición de inhibidores de CK1

[0101] Se analizaron los compuestos PF-670462, PF-5006739, compuesto E, compuesto F, compuesto D, compuesto H, compuesto A y SR3029 para su inhibición de CK1 α , CK1 δ , CK1 ϵ y de p38, y su represión concurrente de DUX4. La tabla 4 muestra resultados inhibitorios.

5

Tabla 4 - inhibición de CK1 y p38 por inhibidores de CK1, en nM

IC ₅₀ EC ₅₀	PF-670462	PF-5006739	E	F	D	H	A	SR-3029
CK1 α	320	123	592	561	644	33	30	>10k
CK1 δ	29	20	31	18	33,1	22	19	346
CK1 ϵ	100	27	84	72	51,6	16	12	381
p38	32	74	1110	677	569	25	13	>10k
DUX4	470 (n=4)	820 (n=12)	1890 (n=4)	2590 (n=2)	1410 (n=2)	10 (n=2)	50 (n=2)	50

Referencias

[0102] Balog et al., 2015 Epigenetics. 2015; 10(12):1133-42; Van den Boogaard et al., 2016, DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.03.013; Brockschmidt et al., 2008, DOI: 10.1136/gut.2007.123695; Campbell et al., 2017, DOI: 10.1186/s13395-017-0134-x; Eide EJ, Virshup DM, 2001, DOI:10.1081/CBI-100103963; Etchegaray JP et al., 2009, DOI:10.1128/MCB.00338-09; Geng et al., 2012, DOI: 10.1016/j.devcel.2011.11.013; Kowaljow et al., 2007, DOI: 10.1016/j.nmd.2007.04.002; Lemmers et al., 2010, DOI: 10.1126/science.1189044; Rickard et al., 2015, DOI: 10.1093/hmg/ddv315; Rudnicki et al., 1993; cell 75(7):1351-9; Sharma et al., 2016, DOI:10.4172/2157-7412.1000303; Snider et al., 2010, DOI: 10.1371/journal.pgen.1001181; Stadler et al., 2013, DOI: 10.1038/nsmb.2571; Tawil et al., 2014, DOI: 10.1186/2044-5040-4-12; Vanderplanck et al., 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0026820; Wallace et al., 2011, DOI: 10.1002/ana.22275; Yao et al., 2014, DOI: 10.1093/hmg/ddu251; Young et al., 2013, doi:10.1371/journal.pgen.1003947; Zhang et al., 1999, doi:10.1177/108705719900400206; WO2011051858 / WO2012085721 / WO2015119579 / EP2949651 / WO2009016286 / US2005/0131012 / WO2015195880 / US2015087636A1

10

15

LISTADO DE SECUENCIAS

- 20 [0103]
- <110> Facio Intellectual Property B.V.
- <120> Compuestos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la expresión de DUX4
- <130> P6070171EP1
- <150> EP17207162.3
- 25 <151> 2017-12-13
- <160> 15
- <170> versión de PatentIn 3.5
- <210> 1
- <211> 16
- 30 <212> ADN
- <213> secuencia artificial
- <220>

<223> cebador directo de hDUX4 para qPCR

<400> 1
cccggctgac gtgcaa 16

5 <210> 2
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> cebador inverso de hDUX4 para qPCR

10 <400> 2
agccagaatt tcacgaaga ac 22

<210> 3
<211> 22
<212> ADN
15 <213> secuencia artificial

<220>
<223> cebador de sonda de hDUX4 para qPCR

<400> 3
agctcgctgg cctctctgtg cc 22

20 <210> 4
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
25 <223> cebador directo de hGUSB para qPCR

<400> 4
ttccctccag ctcaatgac a 21

<210> 5
<211> 17
30 <212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> cebador inverso de hGUSB para qPCR

<400> 5
35 ccacacccag ccgacaa 17

<210> 6
<211> 19
<212> ADN
<213> secuencia artificial

40 <220>
<223> cebador de sonda de hGUSB para qPCR

<400> 6
aggactggcg tctgcggca 19

<210> 7
<211> 20
5 <212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> cebador directo de hRPL27 para qPCR

<400> 7
10 tgcctggct ggacgtact 20

<210> 8
<211> 23
<212> ADN
<213> secuencia artificial

15 <220>
<223> cebador inverso de hRPL27 para qPCR

<400> 8
gaggtgccat catcaatgtt ctt 23

20 <210> 9
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> cebador de sonda de hRPL27 para qPCR

25 <400> 9
cggacgcaaa gctgtcatcg t 21

<210> 10
<211> 22
<212> ADN
30 <213> secuencia artificial

<220>
<223> cebador directo de hZSCAN4 para qPCR

<400> 10
aggcaggaat tgcaaagact tt 22

35 <210> 11
<211> 23
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
40 <223> cebador inverso de hZSCAN4 para qPCR

<400> 11

aattcatcc ttgctgtgct ttt 23

<210> 12
<211> 28
<212> ADN
5 <213> secuencia artificial

<220>
<223> cebador de sonda de hZSCAN4 para qPCR

<400> 12
taggatcttt cactcatggc tgcaacca 28

10 <210> 13
<211> 19
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
15 <223> cebador directo de hMYOG para qPCR

<400> 13
gctcacggct gaccctaca 19

<210> 14
<211> 21
20 <212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> cebador inverso de hMYOG para qPCR

<400> 14
25 cactgtgatg ctgtccacga t 21

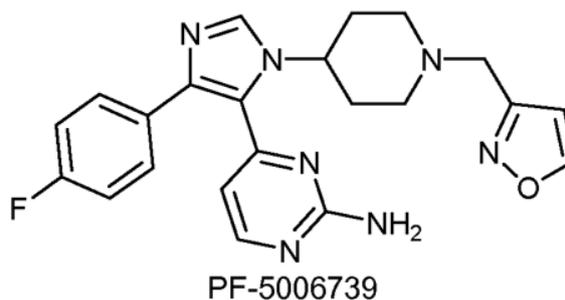
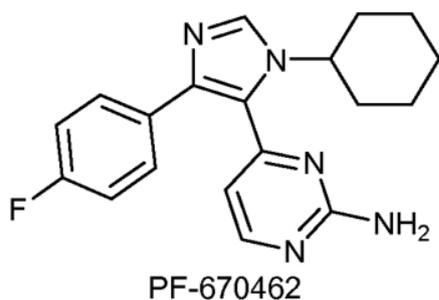
<210> 15
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

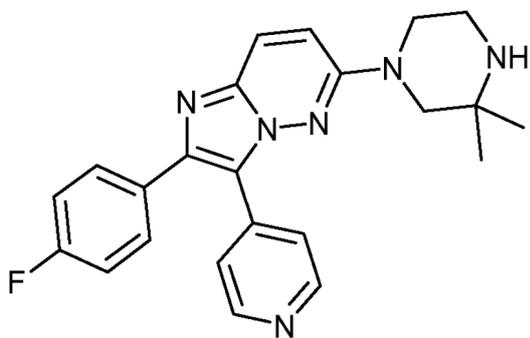
30 <220>
<223> cebador de sonda de hMYOG para qPCR

<400> 15
cccacaacct gcactccctc acct 24

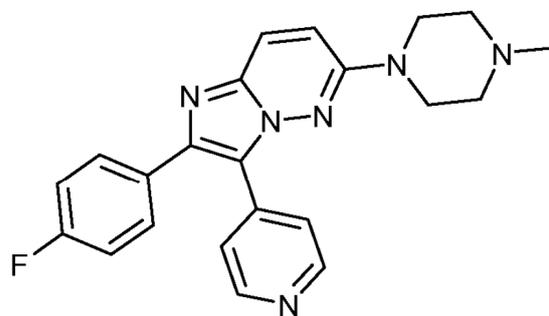
REIVINDICACIONES

1. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para usar en el tratamiento de la distrofia muscular facioescapulohumeral (FSHD), donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 reduce la expresión de DUX4.
2. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según la reivindicación 1, **caracterizado por el hecho de que** se administra a un sujeto 4, 3, 2 o 1 veces al día o menos, preferiblemente 1 vez al día.
3. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde el inhibidor de quinasa de caseína inhibe al menos la quinasa de caseína 1δ.
4. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, **caracterizado por el hecho de que** se administra a un sujeto en una cantidad que varía de 0,1 a 1500 mg/día, preferiblemente de 0,1 a 400 mg/día, más preferiblemente de 0,25 a 150 mg/día.
5. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, **caracterizado por el hecho de que** se administra por vía oral, por vía sublingual, por vía intravascular, por vía intravenosa, por vía subcutánea o por vía transdérmica, preferiblemente por vía oral.
6. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde la expresión de DUX4 se reduce al menos un 20%, un 40%, un 60%, un 80% o más.
7. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 reduce la expresión de DUX4 en células musculares o células inmunitarias.
8. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde la reducción de la expresión de DUX4 se determina usando una PCR o una inmunotinción.
9. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 es de la clase que incluye un núcleo de azol.
10. Inhibidor de quinasa de caseína 1 para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, donde el inhibidor de quinasa de caseína 1 se selecciona del grupo que consiste en los compuestos A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, SR-3029, PF-670462 y PF-5006739;

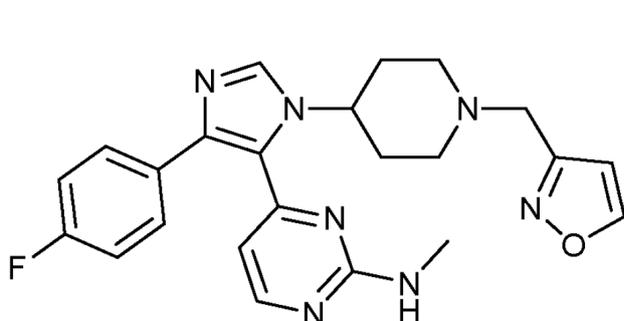




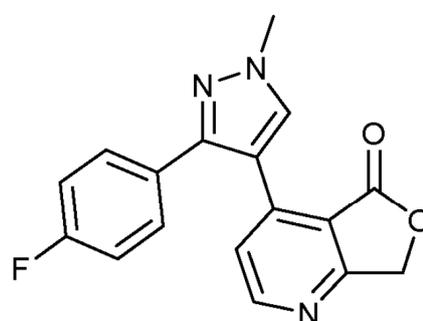
Compuesto A



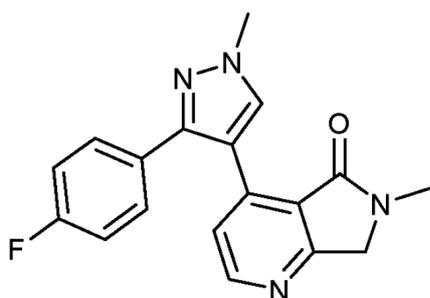
Compuesto B



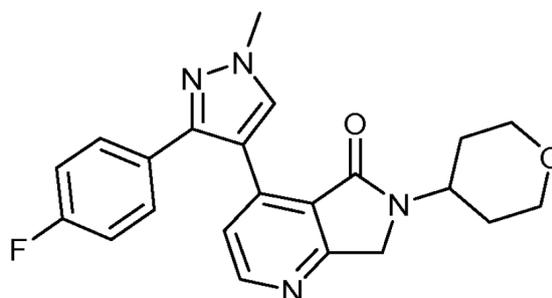
Compuesto C



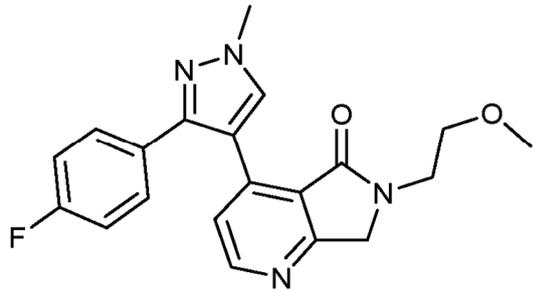
Compuesto D



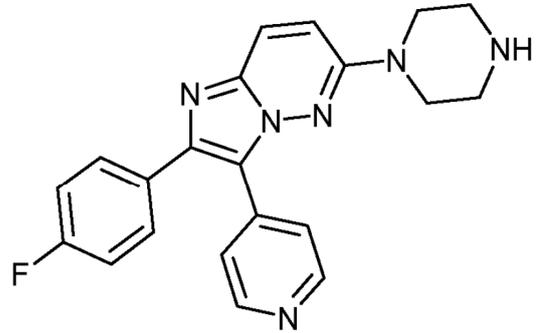
Compuesto E



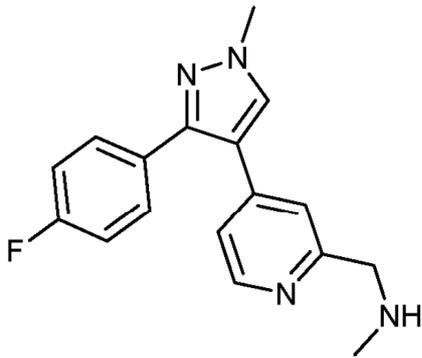
Compuesto F



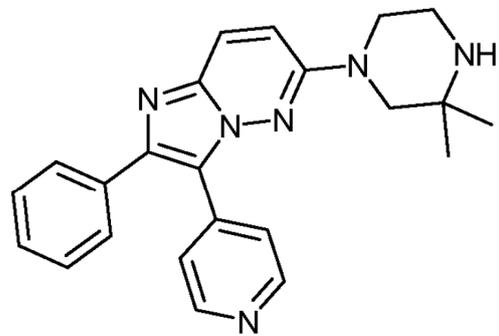
Compuesto G



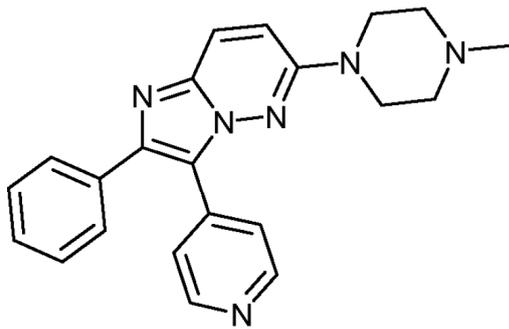
Compuesto H



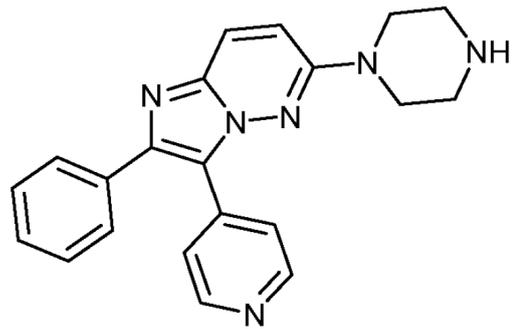
Compuesto I



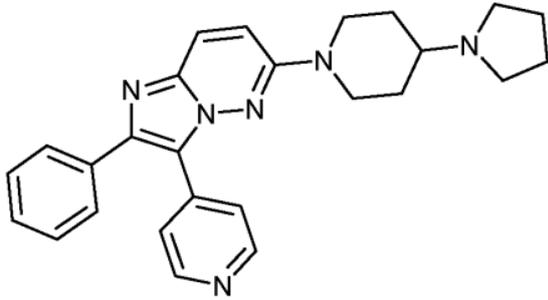
Compuesto J



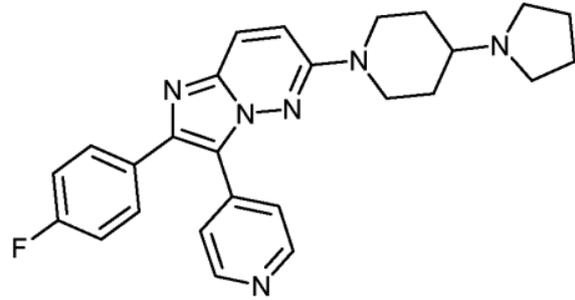
Compuesto K



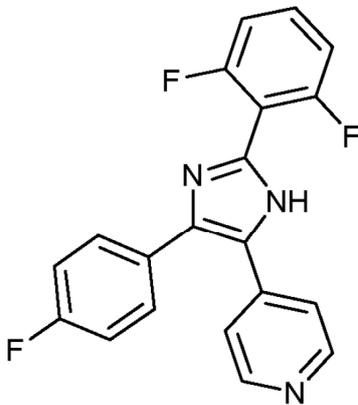
Compuesto L



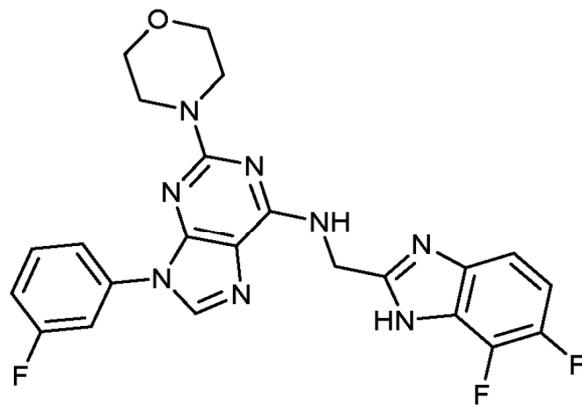
Compuesto M



Compuesto N



Compuesto O



SR-3029.

11. Composición que comprende

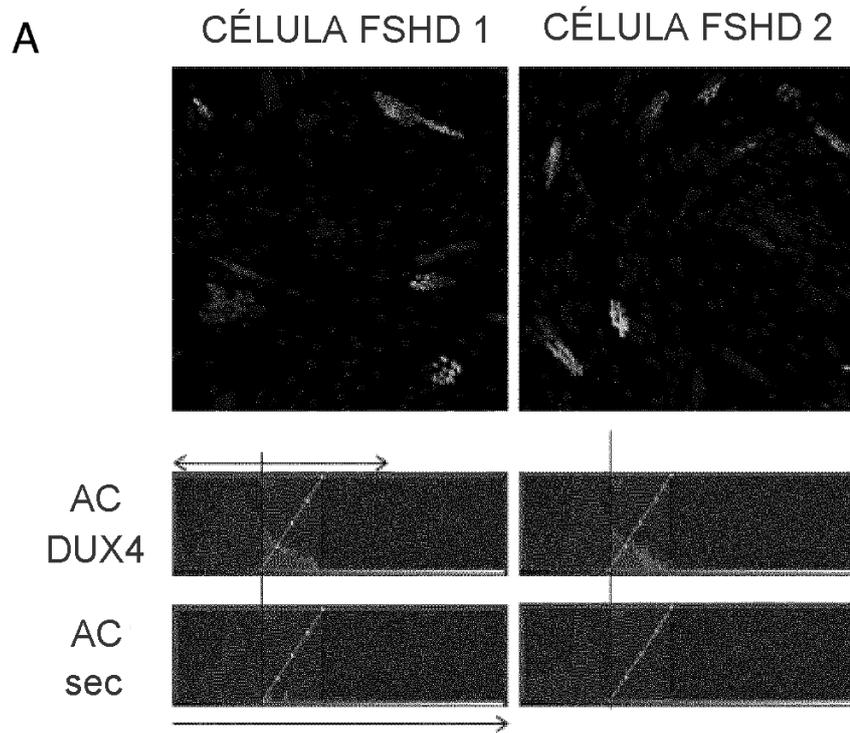
- 5
- al menos un inhibidor de quinasa de caseína 1 según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-10, y
 - un excipiente farmacéuticamente aceptable,

para el uso según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-10.

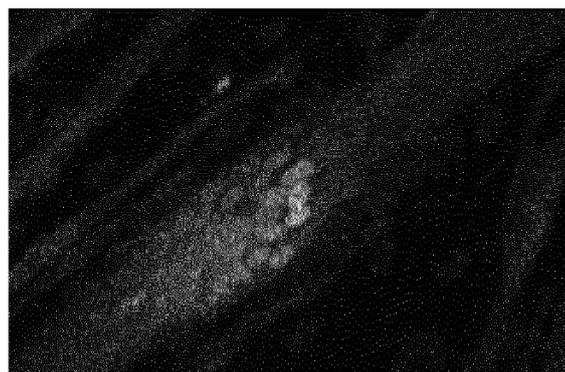
12. Composición para el uso según la reivindicación 11, donde la composición se formula para una administración oral, sublingual, parenteral, intravascular, intravenosa, subcutánea o transdérmica, preferiblemente para una administración oral.

- 10
13. Método *in vitro* o *ex vivo* para reducir la expresión de DUX4, donde el método comprende el paso de poner en contacto una célula con un inhibidor de quinasa de caseína 1 según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-10, o con una composición según se define en la reivindicación 11 o 12.

Figura 1



B



100 μm

Figura 2

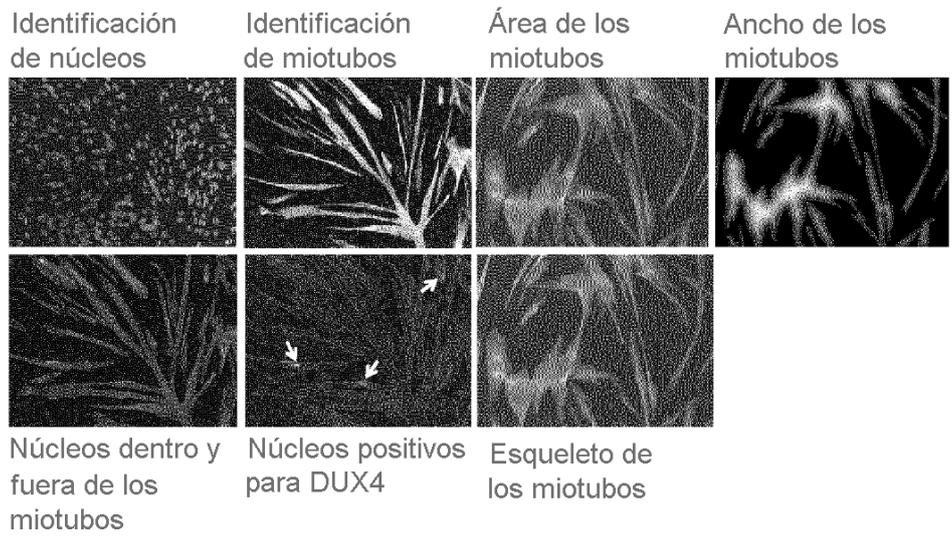


Figura 3

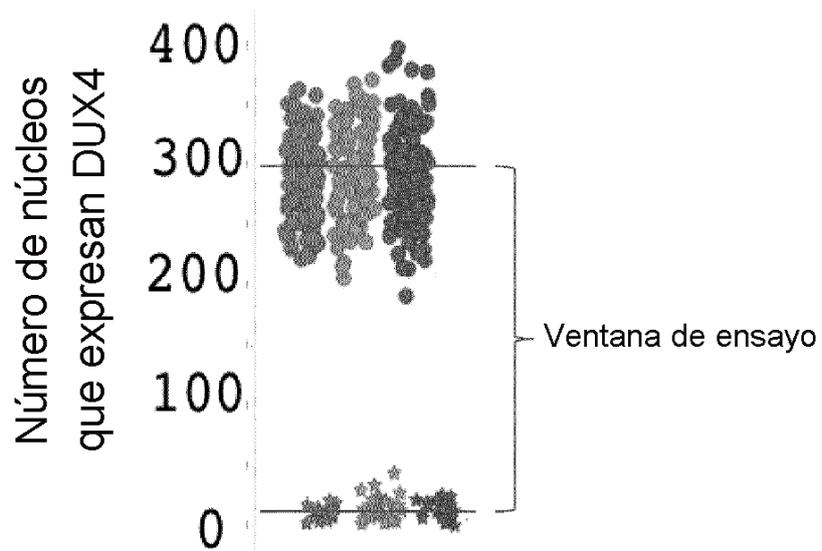


Figura 4A

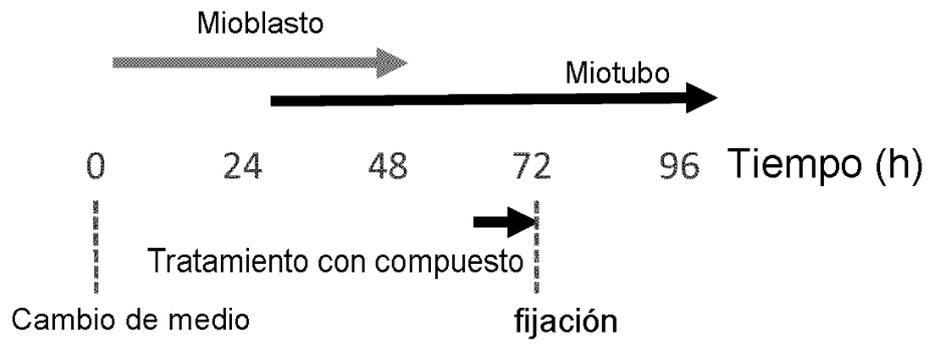


Figura 4B

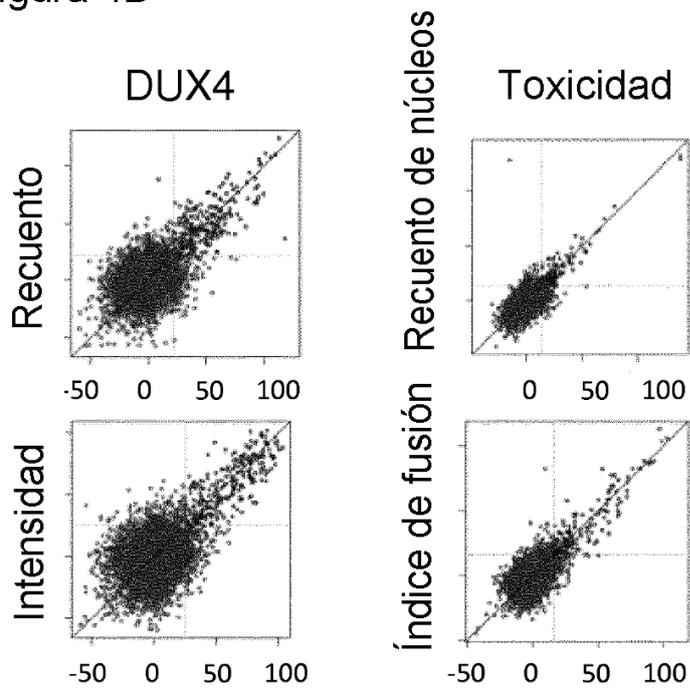


Figura 5A

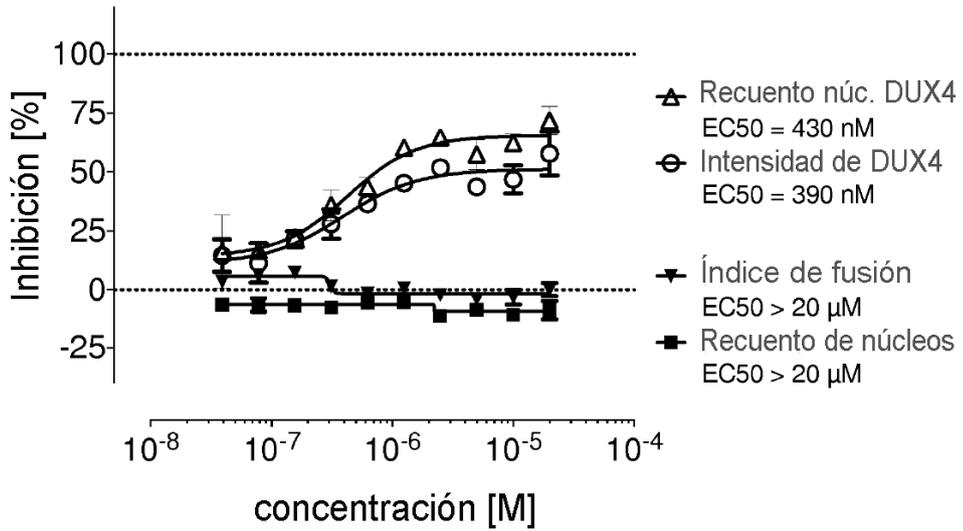


Figura 5B

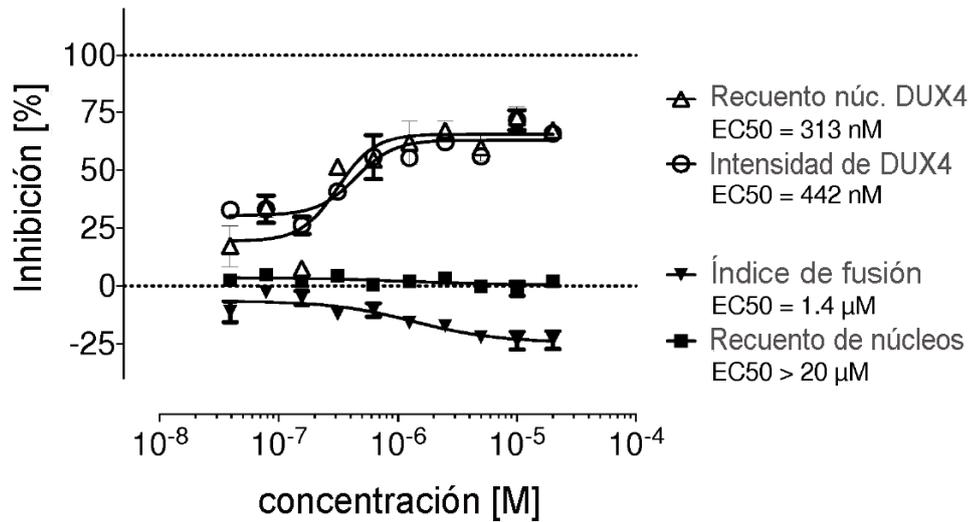


Figura 5C

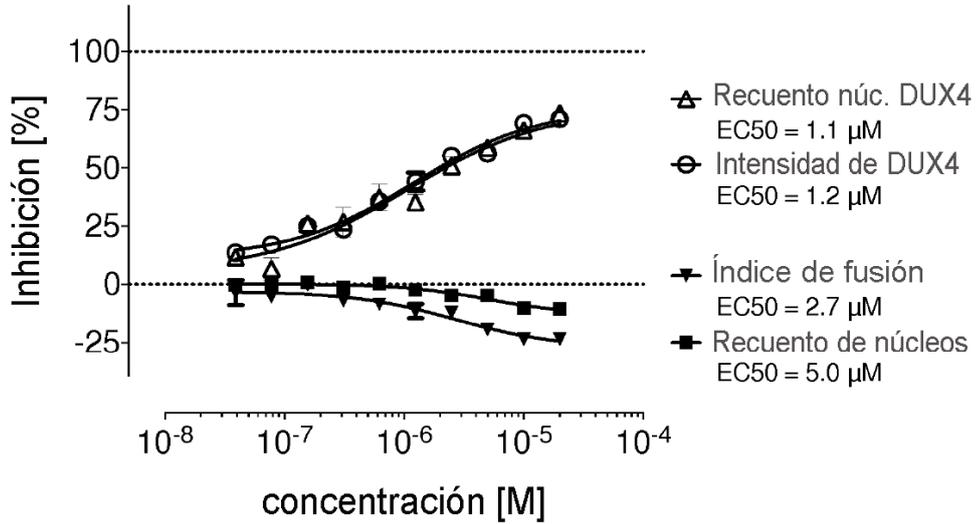


Figura 5D

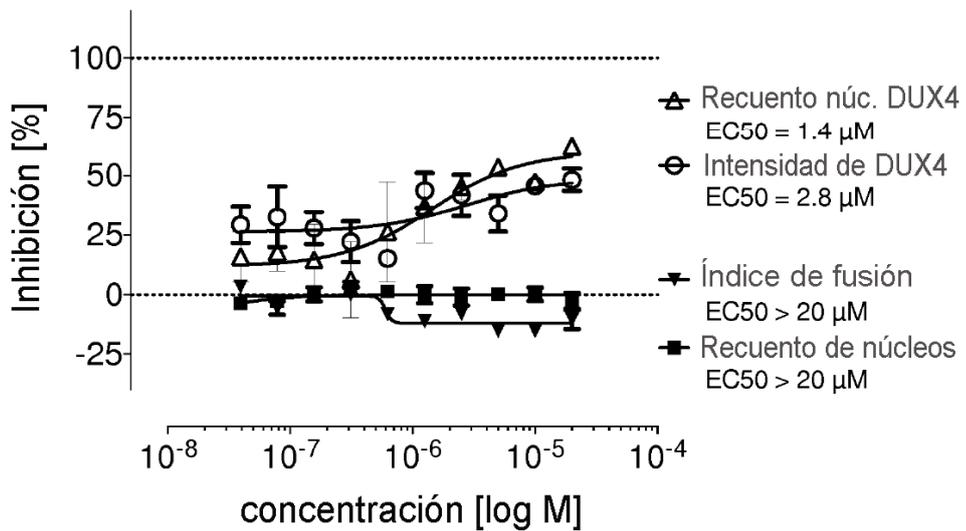


Figura 5E

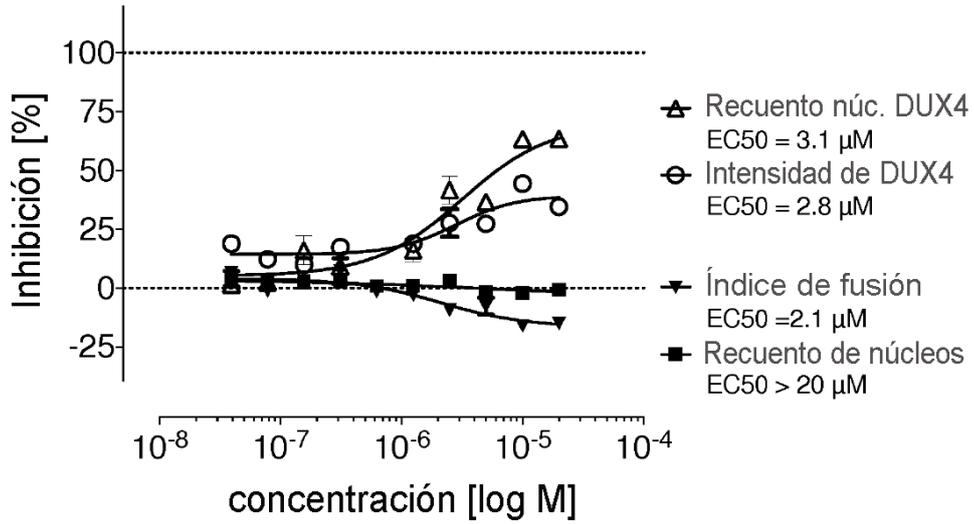


Figura 5F

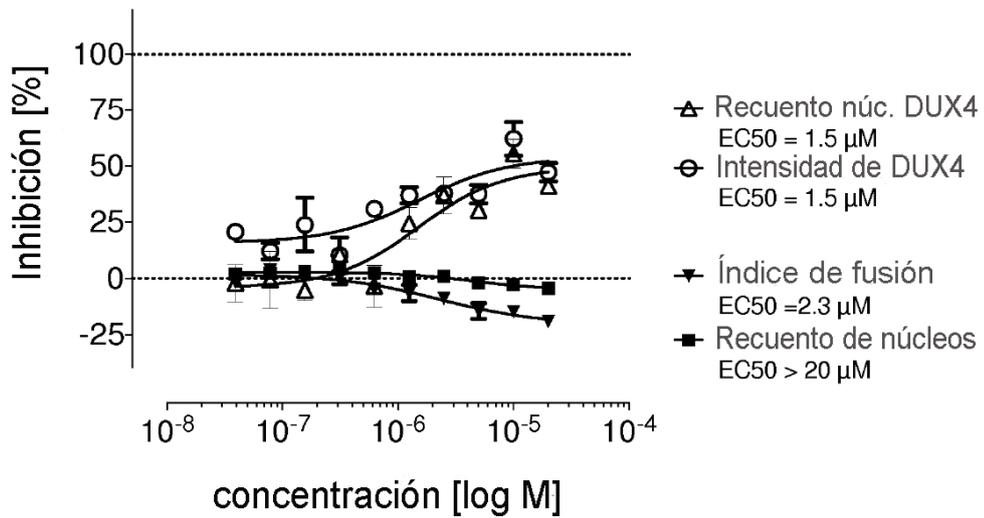


Figura 5G

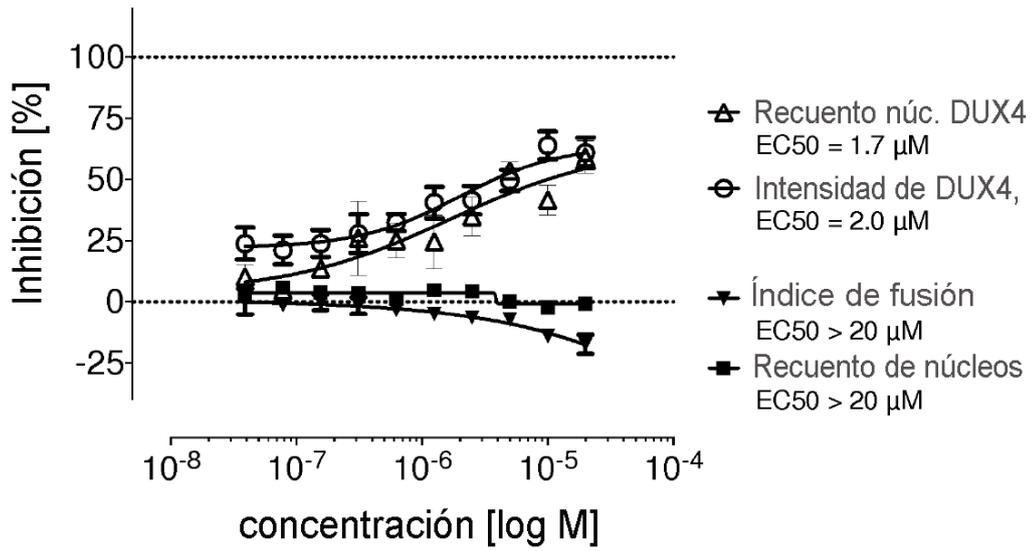


Figura 6A

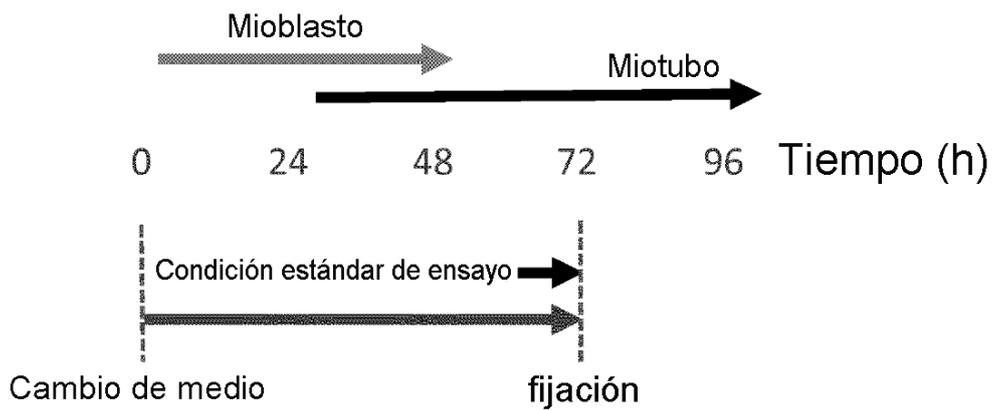


Figura 6B2

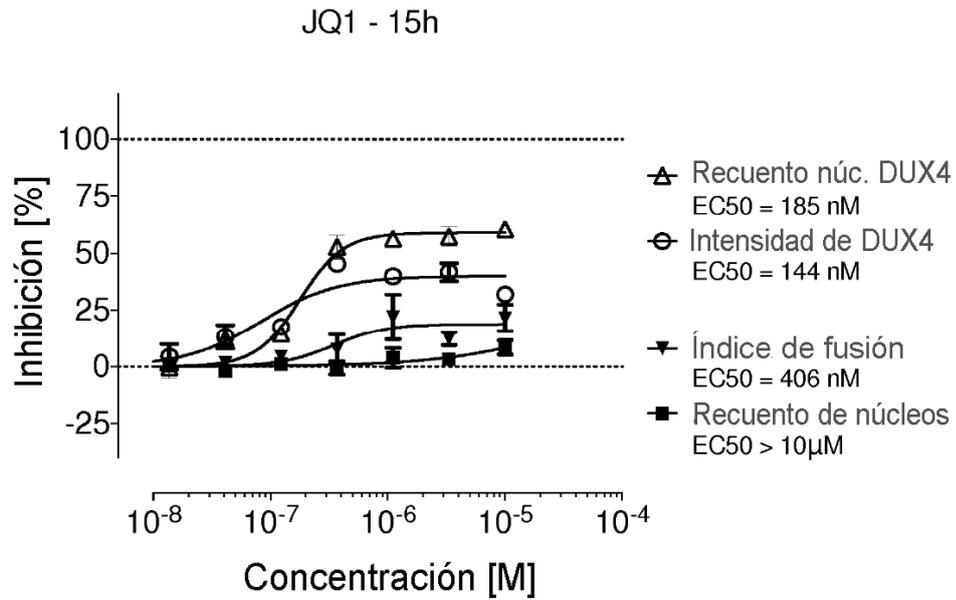


Figura 6B2

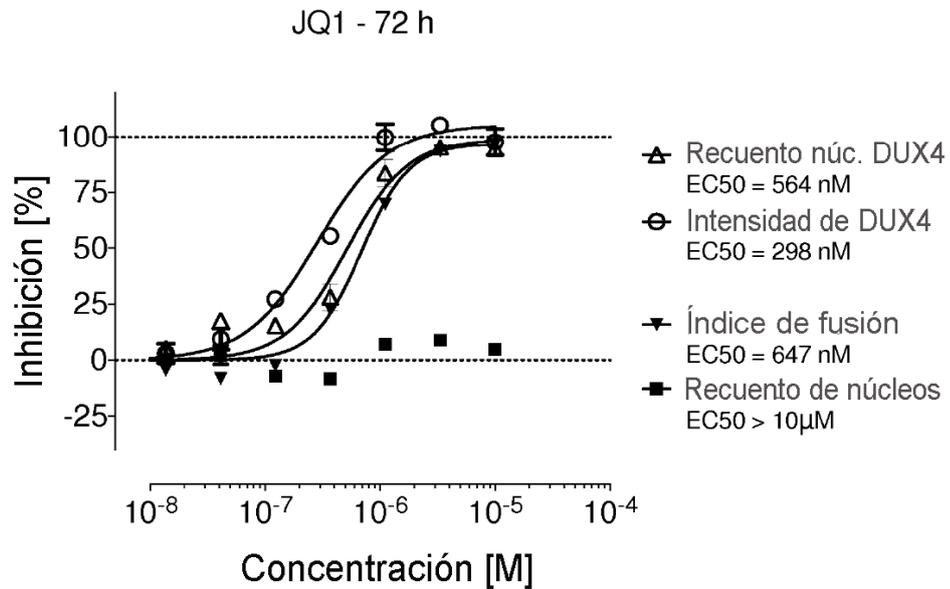


Figura 6C1

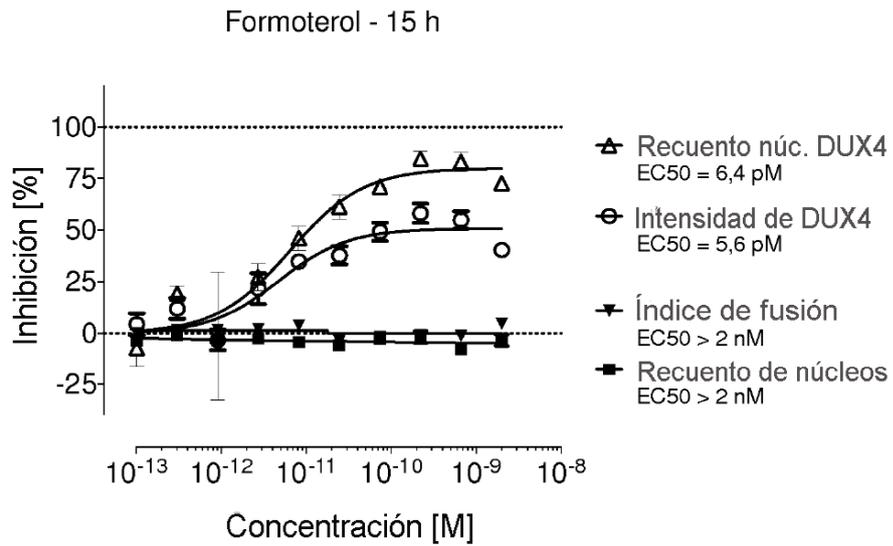


Figura 6C2

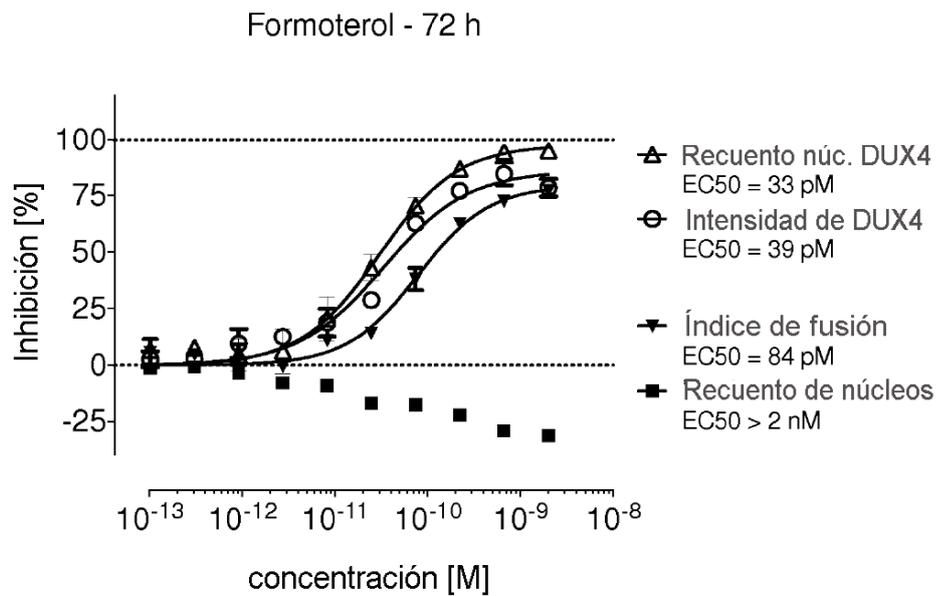


Figura 6D1

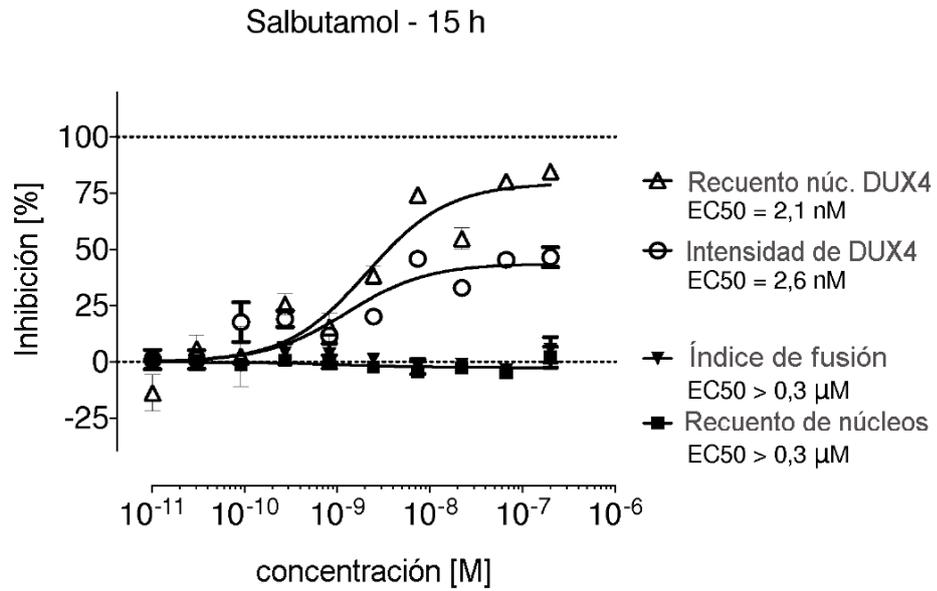


Figura 6D2

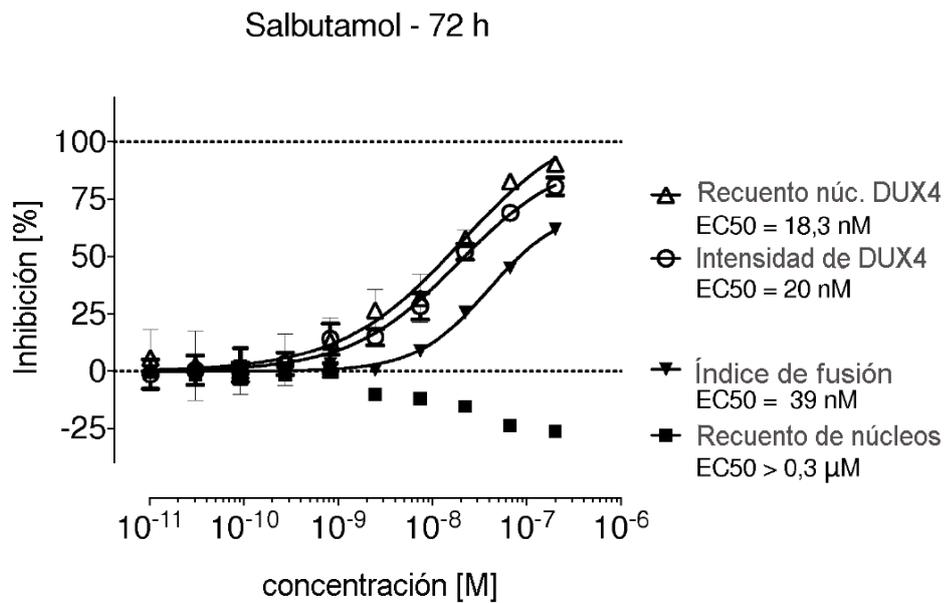


Figura 6E1

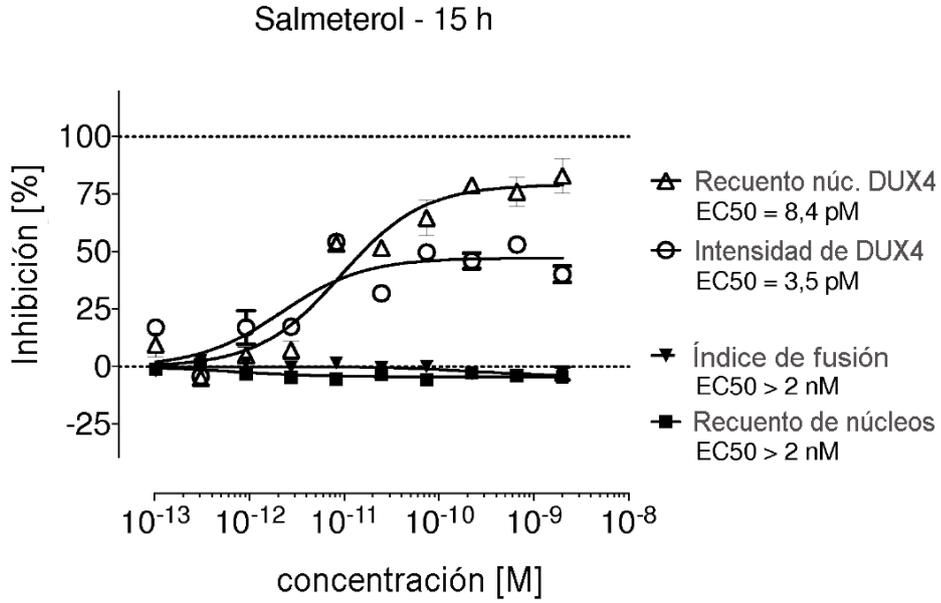


Figura 6E2

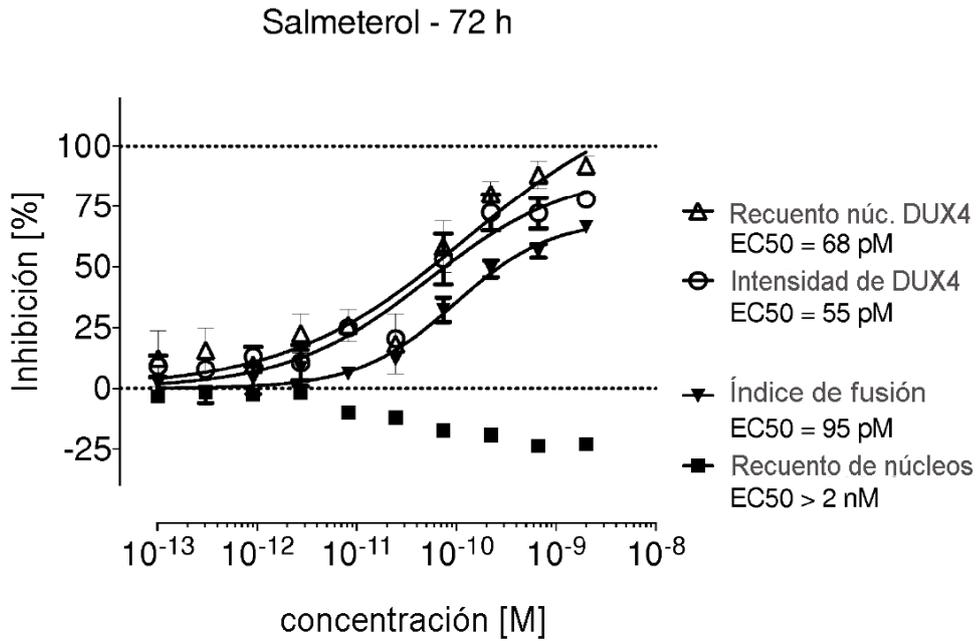


Figura 6F

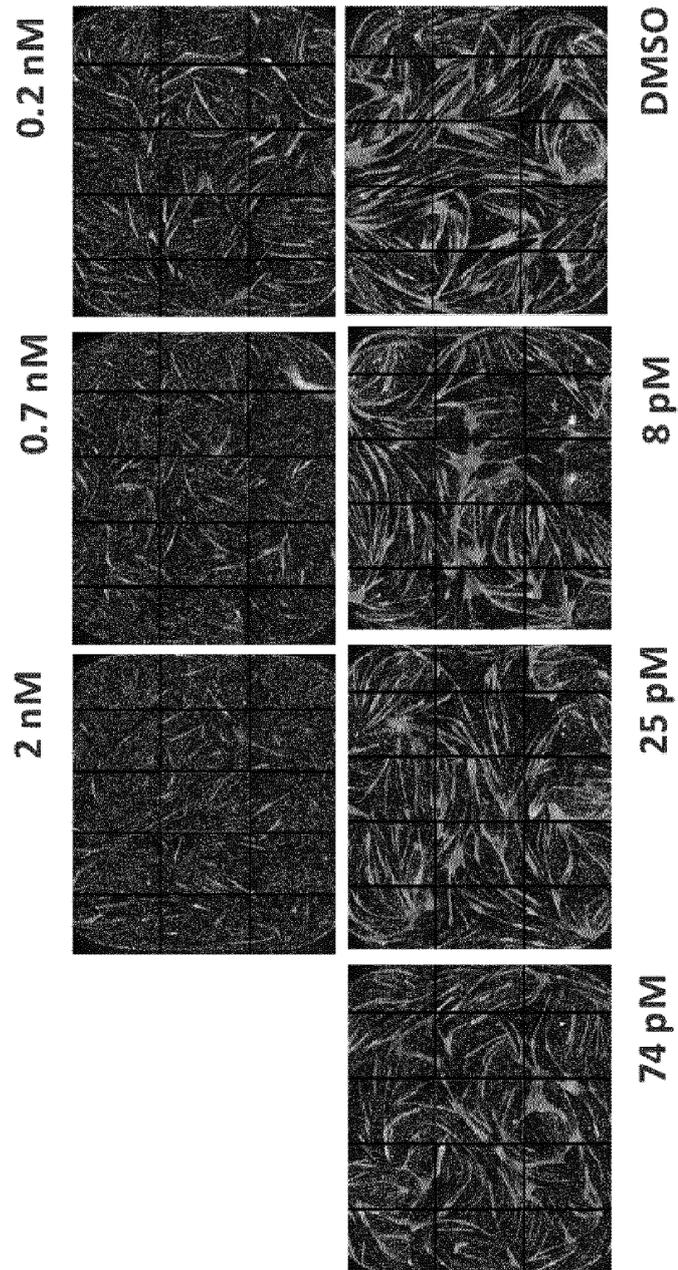


Figura 6G1

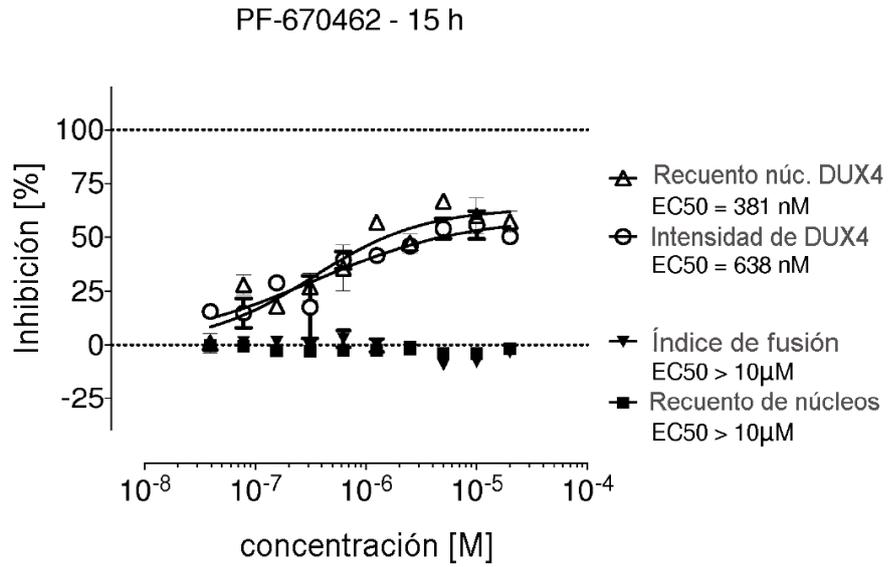


Figura 6G2

