

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 009 243**

51 Int. Cl.:

A61K 31/47 (2006.01) **C12Q 1/68** (2008.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
C07D 215/38 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2015** **E 21211115 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2024** **EP 3998070**

54 Título: **MIR-124 como biomarcador para el tratamiento de enfermedades inflamatorias**

30 Prioridad:

17.07.2014 EP 14306164

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.03.2025

73 Titular/es:

ABIVAX (25.00%)
7-11 Boulevard Haussmann
75009 Paris, FR;
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (25.00%);
INSTITUT CURIE (25.00%) y
UNIVERSITE DE MONTPELLIER (25.00%)

72 Inventor/es:

TAZI, JAMAL;
NAJMAN, ROMAIN;
MAHUTEAU, FLORENCE y
SCHERRER, DIDIER

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

Observaciones:

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

ES 3 009 243 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

MIR-124 como biomarcador para el tratamiento de enfermedades inflamatorias

5 Campo de la invención

La invención se refiere a la identificación de nuevos derivados de quinolina que sean eficaces para tratar y/o prevenir enfermedades inflamatorias seleccionadas de un grupo que consiste en: una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo, una enfermedad inflamatoria de la piel, bronquitis y asma.

La invención también se refiere al campo de los biomarcadores asociados con tales enfermedades inflamatorias seleccionadas de un grupo que consiste en: una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo, una enfermedad inflamatoria de la piel, la bronquitis y el asma.

15 Antecedentes de la invención

La inflamación es una respuesta protectora del sistema inmunológico ante el daño tisular y la infección. Sin embargo, la respuesta inflamatoria, en algunas circunstancias, puede dañar el organismo. En la fase aguda, la inflamación se caracteriza por dolor, calor, enrojecimiento, hinchazón y pérdida de función. Existe una amplia gama de afecciones inflamatorias que afectan a millones de personas en todo el mundo.

De hecho, las enfermedades inflamatorias incluyen una amplia gama de afecciones que incluyen la enfermedad inflamatoria asociada con una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo y la inflamación de la piel. Entre ellas, la enfermedad intestinal inflamatoria, la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple son de particular interés.

La enfermedad intestinal inflamatoria (EII) es una enfermedad multifactorial compleja (Perše y Cerar, 2012). Comúnmente, se refiere a la colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC), dos afecciones crónicas que implican la inflamación del intestino. La EII es común en los países desarrollados, y hasta 1 de cada 200 personas de la región del norte de Europa se ve afectada por estas enfermedades. Los pacientes con EII presentan varios problemas clínicamente desafiantes para los médicos. La colitis inducida por el DSS se asocia con la regulación positiva de diferentes citocinas proinflamatorias, incluidas el TNF-alfa y el IFN-gamma. Recientemente, se ha demostrado que el miR-124 se desregula específicamente en pacientes pediátricos con CU activa, lo que lleva a un aumento de los niveles de expresión del transductor y activador de la transcripción 3 (STAT3) y a la activación transcripcional de sus dianas corriente abajo, entre las que se encuentran las citocinas proinflamatorias (Koukos y col.; Gastroenterology; 145(4):842-52; 2013). Sin embargo, a pesar de los avances recientes, sigue existiendo la necesidad de una terapia segura y bien tolerada con un inicio rápido y una mayor capacidad para mantener la remisión a largo plazo.

La artritis reumatoide (AR) es la enfermedad autoinmunitaria más frecuente, con una prevalencia de aproximadamente el 0,3 al 1 % de la población mundial y, frecuentemente, se asocia con movilidad reducida, mayor dependencia social e incapacidad para trabajar. La AR es una enfermedad inflamatoria sistémica que afecta al tejido que recubre las articulaciones llamado sinovial. El tejido sinovial reumatoide se caracteriza por la hiperproliferación de sinoviocitos similares a los fibroblastos (FLS) en la capa de revestimiento íntimo y la infiltración del subrevestimiento por macrófagos, células T y B y otras células inflamatorias que promueven la inflamación y la destrucción del hueso y el cartílago. La expresión intraarticular y sistémica de las citocinas proinflamatorias, en particular el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), la interleucina-1 (IL-1) y la interleucina-6 (IL-6), producidas principalmente por los macrófagos sinoviales, desempeña un papel crucial en la patogénesis de la AR, p. ej., al contribuir a la hiperproliferación de los FLS de la AR. Generalmente, los pacientes con AR se tratan con un grupo de fármacos de pequeño peso molecular denominados fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARD). Los DMARD suprimen de alguna manera los sistemas inmunológico y/o inflamatorio hiperactivos del cuerpo, lo que ralentiza la progresión de la enfermedad. Los pacientes con AR que no responden a los DMARD se tratan con agentes biológicos tales como los antagonistas del factor de necrosis tumoral (TNF). Sin embargo, aunque los antagonistas del TNF son eficaces en aproximadamente dos tercios de los pacientes, los pacientes que responden frecuentemente dejan de responder al cabo de cinco años. Por lo tanto, se requieren tratamientos alternativos. Notablemente, existe un interés particular por nuevos métodos terapéuticos diseñados para pacientes con AR en etapas tempranas, antes de que la enfermedad se vuelva crónica.

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria autoinmunitaria, una enfermedad desmielinizante del sistema nervioso central que destruye la mielina, los oligodendrocitos y los axones. La EM se caracteriza por múltiples focos de inflamación e infiltración de macrófagos y células T encefalitogénicas en el sistema nervioso central. Las microglías se encuentran en todo el sistema nervioso central y participan en el inicio y la progresión de las respuestas inflamatorias del SNC. Las microglías, cuando se activan, son muy perjudiciales para la función del SNC a través de la producción de neurotoxinas, células inflamatorias (proteína 10 inflamatoria, proteína 1 inflamatoria de macrófagos, proteína 2 inflamatoria de macrófagos, ligando 19 de quimiocinas C-C, proteína 1 quimioatrayente de monocitos,

proteína 2 quimioatrayente de monocitos) y células inmunitarias que producen anticuerpos. Las microglías dirigen las respuestas inflamatorias que pueden conducir a la infiltración del cerebro y la médula espinal por parte de las células inmunitarias contra invasores extraños, así como por parte de las células T que destruyen las proteínas de la mielina. Los macrófagos periféricos aparecen en el SNC durante la inflamación y estas células tienen un fenotipo altamente activado, estimulan eficazmente la expansión de las células T encefalitogénicas y se cree que contribuyen a la destrucción del tejido neuronal.

Los microARN (miARN), el grupo no codificante más completo, son una clase de ARN no codificantes de aproximadamente 22 nt que inhiben la expresión génica mediante la unión a la región no traducida (UTR) de los transcritos de ARNm diana (Lai y col., Nature Genetics, vol. 30, n.º 4, págs. 363-364, 2002; Bartel y col., Cell, vol. 136, n.º 2, págs. 215-233, 2009). Los genes del miARN representan aproximadamente el 1-2 % de los genomas eucariotas conocidos. Las predicciones sugieren que cada miARN puede tener como diana más de 200 transcritos y que un solo ARNm puede ser regulado por múltiples miARN (LINDOW, DNA Cell Biol., vol. 26(5), págs. 339-351, 2007). Los miARN se generan a partir de transcritos endógenos en forma de horquilla y actúan mediante el emparejamiento de bases con los ARNm diana, lo que conduce a la escisión del ARNm o a la represión traduccional, dependiendo del grado de emparejamiento de bases. Dos eventos de procesamiento conducen a la formación del miARN maduro: en primer lugar, los transcritos de miARN nacientes (pri-miARN) se procesan en precursores de 70 nucleótidos (pre-miARN) que se exportan desde el núcleo y se escinden en el citoplasma para generar miARN maduros cortos (de aproximadamente 22 nucleótidos de longitud) (LEE, EMBO J., vol. 21, págs. 4663-4670, 2002). Los miARN pueden ubicarse de manera intergénica o intragénica. Cuando son intergénicos, su expresión se coordina con otros miARN como un grupo (Altuvia y col., Nucleic Acids Research, vol. 33, n.º 8, págs. 2697-2706, 2005; Oszolák y col., Genes and Development, vol. 22, n.º 22, págs. 3172-3183, 2008). Cuando son intragénicos, es decir, se encuentran dentro de un gen que codifica proteínas (casi exclusivamente en intrones), frecuentemente se expresan a partir de la misma cadena que su gen hospedante (Liu y col., Cell Research, vol. 18, n.º 10, págs. 985-996, 2008; Kim y col., EMBO Journal, vol. 26, n.º 3, págs. 775-783, 2007) y en niveles correlacionados (Baskerville y col., RNA, vol. 11, n.º 3, págs. 241-247, 2005).

Actualmente se ha demostrado que la sobreexpresión de un miARN, a saber, el miR-124, desactiva los macrófagos inflamatorios y los convierte en células similares a las microglías. Se cree que el miR-124 inhibe la activación de los macrófagos al tener como diana la CEBP α , un factor de transcripción responsable de la diferenciación de las células del linaje mieloide. La inyección intravenosa de liposomas que contienen miR-124 suprime notablemente los síntomas clínicos de la EAE e inhibe la infiltración de células T encefalitogénicas y macrófagos inflamatorios en el SNC.

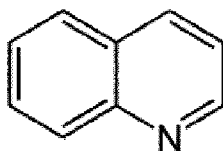
De hecho, Ponomarev y col. ("microRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP- α -PU.1 pathway"; Nature Medicine (2011); 17:1: 64-71) sugieren que el miR-124 podría desempeñar un papel como regulador clave de la quiescencia de las microglías y como modulador de la activación de monocitos y macrófagos. Basándose en un modelo de encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE), este estudio sugiere que el patrón de expresión del miR-124 se modula (se regula ya sea positivamente o negativamente dependiendo del tipo de célula) en ratones con EAE.

El documento WO2010/151755 también enseña la administración del miR-124 para tratar una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central (SNC).

Sun y col. ("microRNA-124 mediates the cholinergic anti-inflammatory action through inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines"; Cell Research (2013); 23:1270-1283) también enseñan que el miR-124 podría mediar en una acción antiinflamatoria colinérgica al tener como diana el STAT3 y la TACE.

Por otro lado, se han identificado nuevos compuestos, también denominados en la presente memoria "*derivados de quinolina*", pero con distintas indicaciones.

Como referencia, una quinolina es un compuesto orgánico aromático heterocíclico de fórmula:



Por lo tanto, los "*derivados de quinolina*" incluyen quinolinas sustituidas, tales como quinolinas monosustituidas o polisustituidas.

El documento WO2010/143170 enseña el uso de compuestos para tratar afecciones asociadas con el envejecimiento prematuro.

Los documentos WO2010/143169 y WO2012/080953 enseñan el uso de compuestos para tratar el SIDA.

El documento WO2010/143168 enseña el uso de compuestos para tratar una variedad de cánceres. Se ha demostrado que esos compuestos pueden corregir los defectos del corte y empalme alternativo.

Resumen de la invención

La invención se refiere al uso del miR-24 como biomarcador para analizar o evaluar la eficacia de un compuesto de fórmula I para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria según las reivindicaciones independientes 1, 4 y 6.

La presente invención describe, pero no reivindica, compuestos de fórmula (I), como se define a continuación, para uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria y/o inflamación que puede producirse junto con tales enfermedades inflamatorias.

La invención se refiere al uso *in vitro* o *ex vivo* de al menos un miARN, siendo dicho al menos un miARN el miR-124, como biomarcador para la selección de un compuesto de fórmula (I), que se presume eficaz para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria seleccionada de un grupo que consiste en: una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo, una enfermedad inflamatoria de la piel, bronquitis y asma.

La invención describe además, pero no reivindica, un compuesto de fórmula (Id) o (Ie) como se define de aquí en adelante como tal.

La invención describe además, pero no reivindica, una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (Id) o (Ie).

También describe, pero no reivindica, un compuesto como tal, seleccionado de una lista que consiste en:

- (8) 8-cloro-5-(3-(piperidin-1-il)propoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (9) 8-cloro-N⁴-(3-(piperidin-1-il)propil)-N²-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2,4-diamina
- (10) 8-cloro-N-metil-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (11) 8-cloro-N⁴-(2-morfolinoetil)-N²-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2,4-diamina
- (13) 4,8-dicloro-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (14) 8-cloro-N-(3-morfolinopropil)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (15) 8-cloro-6-(2-morfolinoetoxi)-N-(3-morfolinopropil)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (16) 8-cloro-5-(2-morfolinoetoxi)-N-(3-morfolinopropil)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (17) 8-cloro-6-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (18) 8-cloro-6-(2-(piperidin-1-il)etoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (19) 8-cloro-6-(3-(piperidin-1-il)propoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (20) 8-cloro-N-(3-fluoro-4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
- (21) N-(5-bromo-4-(trifluorometil)piridin-2-il)-8-cloroquinolin-2-amina
- (22) N²-(8-cloroquinolin-2-il)-N⁵-(3-(4-metilpiperazin-1-il)propil)-4-(trifluorometil)piridin-2,5-diamina
- (28) 8-cloro-N-metil-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (29) 8-cloro-5-(3-(piperidin-1-il)propoxi)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (30) 8-cloro-N-(3-(piperidin-1-il)propil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (31) 8-cloro-N-(2-morfolinoetil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (32) 8-cloro-N-(2-(pirrolidin-1-il)etil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina

- (33) 8-cloro-N-(4-morfolinobutil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (34) 8-cloro-N⁴-(3-(piperidin-1-il)propil)-N²-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2,4-diamina
- 5 – (35) 4,8-dicloro-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (36) 8-cloro-5-(2-morfolinoetoxi)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- 10 – (37) N¹-(4,8-dicloroquinolin-2-il)-4-(trifluorometoxi)benceno-1,2-diamina
- (38) 4,8-dicloro-N-(2-morfolinoetil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (39) 8-cloro-6-(2-morfolinoetoxi)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- 15 – (40) 8-cloro-N²-(2-morfolinoetil)-N⁴-(3-(piperidin-1-il)propil)-N²-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2,4-diamina
- (41) 8-cloro-N-(2-morfolinoetil)-N-(2-nitro-4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- 20 – (42) N¹-(8-cloroquinolin-2-il)-N¹-(2-morfolinoetil)-4-(trifluorometoxi)benceno-1,2-diamina
- (43) 8-cloro-5-(2-morfolinoetoxi)-N-(2-morfolinoetil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (44) N¹-(8-cloro-5-(2-morfolinoetoxi)quinolin-2-il)-4-(trifluorometoxi)benceno-1,2-diamina
- 25 – (46) 8-cloro-2-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)oxi)quinolina
- (47) 4-(2-((8-cloro-2-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)oxi)quinolin-6-il)oxi)etil)morfolina
- 30 – (48) 8-cloro-2-(4-(trifluorometoxi)fenoxi)quinolina
- (49) 4-(2-((8-cloro-2-(4-(trifluorometoxi)fenoxi)quinolin-6-il)oxi)etil)morfolina
- 35 – (50) 4-(2-((8-cloro-2-(4-(trifluorometoxi)fenoxi)quinolin-5-il)oxi)etil)morfolina
- (51) éster mono-[8-cloro-2-(4-trifluorometil-piridin-2-ilamino)-quinolin-6-ilo] del ácido fosfórico
- (52) éster mono-[2-(8-cloro-quinolin-2-ilamino)-5-trifluorometoxi-fenilo] del ácido fosfórico
- 40 – (53) éster mono-[8-cloro-2-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-quinolin-6-ilo] del ácido fosfórico

– y sus sales farmacéuticamente aceptables y, más particularmente, seleccionadas de los compuestos (8), (9); (10); (11); (30); (46); (47); (48); (49) y (50), como se ha definido anteriormente, o una de sus sales farmacéuticas.

45 También describe, pero no reivindica, una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (Id) o (Ie), o uno de los compuestos (8), (9), (10), (11), (13), (14), (15), (16), (17), (18), (19), (20), (21), (22), (28), (29), (30), (31), (32), (33), (34), (35), (36), (37), (38), (39), (40), (41), (42), (43), (44), (46), (47), (48), (49), (50), (51), (52) y (53) y, más particularmente, uno de los compuestos (8), (9), (10), (11), (30), (46), (47), (48), (49) y (50), como se ha definido anteriormente.

50 La invención describe además, pero no reivindica, un método *in vitro* o *ex vivo* para aumentar la expresión del miR-124 en una célula eucariota, que comprende al menos un paso de:

- 55 a) proporcionar una célula eucariota,
- b) poner en contacto dicha célula con un derivado de quinolina y, en particular, con un compuesto de fórmula (I).

60 La invención se refiere además a un método *in vitro* o *ex vivo* para seleccionar un compuesto de fórmula (I), que se presume eficaz para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria seleccionada de un grupo que consiste en: una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo, una enfermedad inflamatoria de la piel, bronquitis y asma; que comprende al menos un paso de:

- 65 a) proporcionar una célula eucariota,

- b) poner en contacto dicha célula con un compuesto de fórmula (I),
- c) medir una expresión del miR-124 en dicha célula, y
- 5 d) seleccionar el candidato que se presume eficaz para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria cuando el nivel de expresión del miR-124 medido en el paso c) aumenta con respecto a un valor de referencia.

Breve descripción de las figuras

10 **Figura 1: Modelo 1 de colitis inducida por sulfato de dextrano de sodio (DSS): variación del porcentaje de pérdida de peso a lo largo del tiempo (días), en un modelo de ratón con DSS, en presencia del compuesto derivado de quinolina (24) tal como se define más adelante.** El porcentaje de pérdida de peso (%) se indica en el eje y. El tratamiento con DSS se produce entre los días 3 y 10 (eje x). La alimentación por sonda con un derivado de quinolina en metilcelulosa (MC), o solo MC, se produce entre los días 3 y 29.

15 **Figura 2: Modelo 2 de colitis inducida por sulfato de dextrano de sodio (DSS): variación del porcentaje de pérdida de peso a lo largo del tiempo (días), en un modelo de ratón con DSS, después de un segundo ciclo de DSS en presencia del compuesto derivado de quinolina (24) como se define más adelante.** El porcentaje de pérdida de peso (%) se indica en el eje y. El tratamiento con DSS comenzó el día 12 durante un período de 5 días (eje x). La alimentación por sonda con un derivado de quinolina en metilcelulosa (MC), o solo MC, se produce entre los días 3 y 29.

20 **Figura 3: Modelo de colitis inducida por sulfato de dextrano de sodio (DSS):** se extirparon los colones 2-3 días después de un segundo tratamiento con DSS (durante 5 días) y se midió la variación del tamaño (cm) del colon. (ns) marca una diferencia no estadísticamente significativa. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Mann-Whitney, un asterisco indica una diferencia significativa ($p < 0,5$), dos asteriscos indican una diferencia muy significativa ($p < 0,05$)

30 **Figura 4: Modelo de colitis inducida por sulfato de dextrano de sodio (DSS):** se extirparon los colones 3 días después de un segundo tratamiento con DSS y se analizaron para determinar el número de lesiones. Las lesiones se observaron al microscopio y se midieron.

35 **Figura 5: Modelo de colitis inducida por sulfato de dextrano de sodio (DSS):** se extirparon los colones 3 días después de un segundo tratamiento con DSS y se determinó el área de la lesión (mm^2).

Figura 6: Modelo de artritis inducida por colágeno: variación de la hinchazón de las articulaciones (mm) a lo largo del tiempo (semanas) en una cohorte media de 10 individuos. La hinchazón de las articulaciones (mm) se indica en el eje y. La variación entre los grupos no tratados y los tratados se evalúa durante 12 semanas.

Descripción detallada de la invención

Existe la necesidad de identificar nuevos compuestos para uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria.

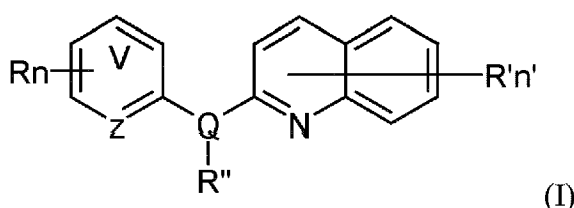
45 También existe la necesidad de un nuevo biomarcador para evaluar la actividad de los fármacos candidatos, tales como los derivados de la quinolina, frente a las enfermedades inflamatorias.

La presente invención tiene el propósito de satisfacer estas necesidades.

Derivados de quinolina

Los derivados de quinolina en la medida en que se refieren a la invención reivindicada se definen en la reivindicación 1. Se describen, pero no se reivindican, aspectos y realizaciones que implican derivados de quinolina que van más allá de esta definición.

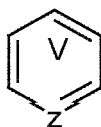
55 En la presente memoria se describe el uso de un compuesto de fórmula (I)



en donde:

Z es C o N,

V es C o N,



significa un anillo aromático en donde V es C o N y cuando V es N, V está en orto, meta o para de Z, es decir, forma respectivamente un grupo piridina, piridazina, pirimidina o pirazina,

R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo -CN, un grupo hidroxilo, un grupo -COOR₁, un grupo fluoroalquilo (C₁-C₃), un grupo fluoroalcoxi (C₁-C₃), un grupo cicloalquilo (C₃-C₆), un grupo -NO₂, un grupo -NR₁R₂, un grupo alcoxi (C₁-C₄), un grupo fenoxi, un grupo -NR₁-SO₂-NR₁R₂, un grupo -NR₁-SO₂-R₁, un grupo -NR₁-C(=O)-R_i, un grupo -NR₁-C(=O)-NR₁R₂, un grupo -SO₂-NR₁R₂, un grupo -SO₃H, un grupo -O-SO₂-OR₃, un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄), un grupo -O-CH₂-COOR₃ y un grupo alquilo (C₁-C₃), estando dicho alquilo opcionalmente monosustituido con un grupo hidroxilo,

Q es N u O, siempre que R'' no exista cuando Q es O,

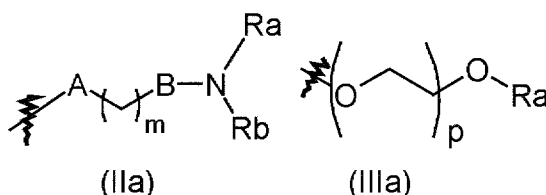
R₁ y R₂ son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C₁-C₃),

R₃ y R₄ representan independientemente un átomo de hidrógeno, Li⁺, Na⁺, K⁺, N⁺(Ra)₄ o un grupo bencilo,

n es 1, 2 o 3,

n' es 1, 2 o 3,

R' representan independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo elegido entre un grupo alquilo (C₁-C₃), un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, un grupo -COOR₁, un grupo -NO₂, un grupo -NR₁R₂, un grupo morfolinilo o morfolino, un grupo N-metilpiperazinilo, un grupo fluoroalquilo (C₁-C₃), un grupo alcoxi (C₁-C₄), un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄) y un grupo -CN, y además puede ser un grupo elegido entre:



A es un enlace covalente, un átomo de oxígeno o NH,

B es un enlace covalente o NH,

m es 1, 2, 3, 4 o 5,

p es 1, 2 o 3,

Ra y Rb representan independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C₁-C₅) o un grupo cicloalquilo (C₃-C₆),

Ra y Rb pueden formar además junto con el átomo de nitrógeno al que se unen un heterociclo saturado de 5 o 6 miembros que contiene opcionalmente un heteroátomo adicional elegido entre N, O y S, estando dicho heterociclo opcionalmente sustituido por uno o más Ra, siempre que cuando R' sea un grupo (IIa) o (IIIa), n' puede ser 2 o 3 solo si otros grupos R' son diferentes de dicho grupo (IIa) o (IIIa),

R'' es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C₁-C₄) o es un grupo (IIa) como se ha definido anteriormente,

o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables,

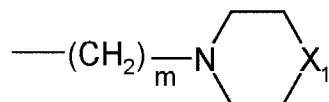
en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria.

Según una realización preferida, Q es N.

Según otra realización preferida, n es 1 o 2.

Según otra realización preferida, n' es 1 o 2.

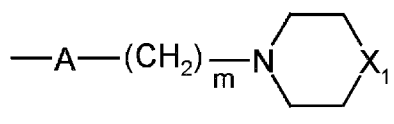
Según otra realización preferida, R'' es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C₁-C₄) o un grupo



en donde m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃.

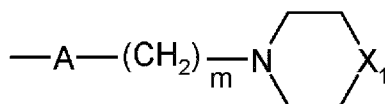
Según otra realización preferida, R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo metilo, un grupo metoxi, un grupo trifluorometilo, un grupo trifluorometoxi, un grupo amino, un átomo de halógeno y un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄) y, más particularmente, un átomo de flúor o cloro, un grupo trifluorometoxi y un grupo amino.

Según otra realización preferida, R' representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno y, más particularmente, un átomo de flúor o cloro, un grupo amino, un grupo metilo, un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄) o un grupo



en donde A es O o NH, m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, siempre que cuando R' sea uno de tales grupos, n' sea 1 o 2, y cuando n' sea 2, el otro grupo R' sea diferente de dicho grupo.

Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan alternativamente de forma independiente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno y, más particularmente, un átomo de flúor o cloro, un grupo metilo o un grupo.

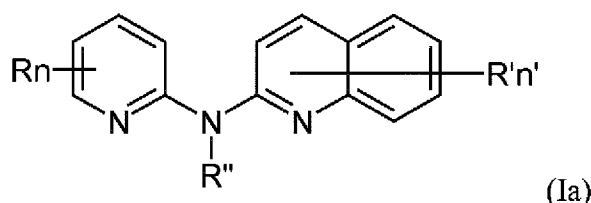


, en donde A es O o NH, m es 2 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, siempre que cuando R' sea uno de tales grupos, n' sea 1 o 2, y cuando n' sea 2, el otro grupo R' sea diferente de dicho grupo.

Por supuesto, todas las realizaciones particulares anteriores y siguientes pueden combinarse entre sí y formar parte de la invención.

Los compuestos de fórmula (I) incluyen compuestos de fórmula (Ia), (Ib), (Ic), (Id) y (Ie), como se define a continuación.

Según una realización particular, otro objeto de la presente invención es el uso de un compuesto de fórmula (Ia)



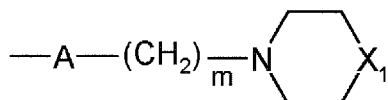
en donde R, R', R'', n y n' son como se ha definido anteriormente,
en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria.

Según un aspecto de dicha realización preferida, n es 1 o 2.

Según un aspecto de dicha realización preferida, n' es 1 o 2.

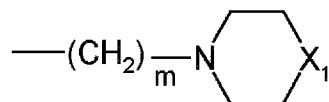
Según un aspecto de dicha realización preferida, R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo hidroxilo, un grupo fluoroalquilo (C₁-C₃), un grupo fluoroalcoxi (C₁-C₃), un grupo -NR₁R₂, un grupo alcoxi (C₁-C₄) y un grupo alquilo (C₁-C₃).

Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo alquilo (C₁-C₃), un grupo hidroxilo, un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄), un grupo -NR₁R₂ o un grupo



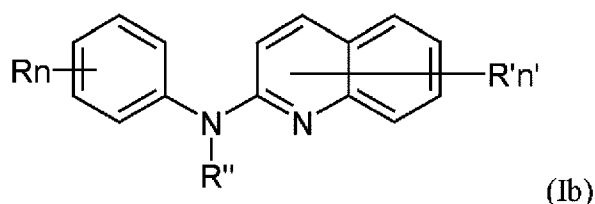
, en donde A es O o NH, m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, siempre que cuando R' sea uno de tales grupos, n' sea 1 o 2 y cuando n' sea 2, el otro grupo R' sea diferente de dicho grupo.

Según un aspecto de dicha realización preferida, R'' es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C₁-C₄) o un grupo



, en donde m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, y preferiblemente R'' es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

Según una realización particular, otro objeto de la presente invención es el uso de un compuesto de fórmula (Ib)



en donde R, R', R'', n y n' son como se ha definido anteriormente,

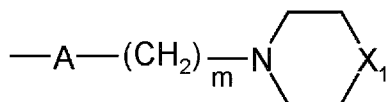
en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria.

Según un aspecto de dicha realización preferida, n es 1 o 2.

Según un aspecto de dicha realización preferida, n' es 1, 2 o 3.

Según un aspecto de dicha realización preferida, R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo hidroxilo, un grupo fluoroalquilo (C₁-C₃), un grupo fluoroalcoxi (C₁-C₃), un grupo -NR₁R₂, un grupo alcoxi (C₁-C₄), un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄) y un grupo alquilo (C₁-C₃).

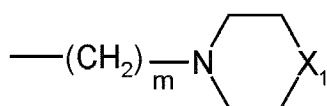
Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo alquilo (C₁-C₃), un grupo hidroxilo, un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄), un grupo -NR₁R₂ o un grupo



, en donde A es O o NH, m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, siempre que cuando R' sea uno de tales grupos, n' sea 1 o 2, y cuando n' sea 2, con el otro grupo R' sea diferente de dicho grupo.

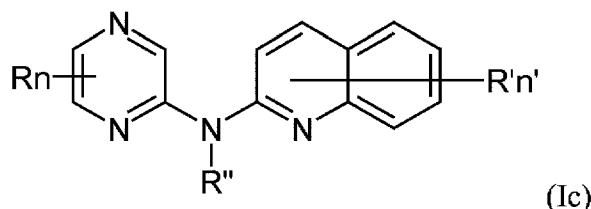
Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan alternativamente de forma independiente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo alquilo (C₁-C₃), un grupo hidroxilo o un grupo -NR₁R₂.

Según un aspecto de dicha realización preferida, R'' es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C₁-C₄) o un grupo



, en donde m es 2 o 3 y X_1 es O, CH_2 o N- CH_3 , y preferiblemente R'' es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

Según una realización particular, otro objeto de la presente invención es el uso de un compuesto de fórmula (Ic)



en donde R, R' , R'' , n y n' son como se ha definido anteriormente,
en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria.

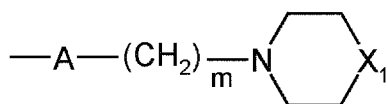
Según un aspecto de dicha realización preferida, n es 1.

Según un aspecto de dicha realización preferida, n' es 1.

Según un aspecto de dicha realización preferida, R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo hidroxilo, un grupo fluoroalquilo (C_1 - C_3), un grupo fluoroalcoxi (C_1 - C_3), un grupo - NR_1R_2 , un grupo alcoxi (C_1 - C_4) y un grupo alquilo (C_1 - C_3).

Según un aspecto de dicha realización preferida, R representan alternativamente de forma independiente un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno.

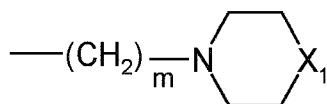
Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo alquilo (C_1 - C_3), un grupo hidroxilo, un grupo - NR_1R_2 o un grupo



, en donde A es O o NH, m es 2 o 3 y X_1 es O, CH_2 o N- CH_3 , siempre que cuando R' sea uno de tales grupos, n' sea 1 o 2 y cuando n' sea 2, el otro grupo R' sea diferente de dicho grupo.

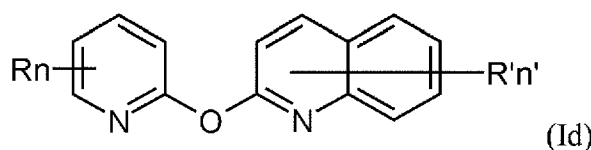
Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan alternativamente de forma independiente un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno.

Según un aspecto de dicha realización preferida, R'' es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C_1 - C_4) o un grupo



, en donde m es 2 o 3 y X_1 es O, CH_2 o N- CH_3 , y preferiblemente R'' es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

Según una realización particular, otro objeto de la presente invención es el uso de un compuesto de fórmula (Id)



en donde R, R' , n y n' son como se ha definido anteriormente,

en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria.

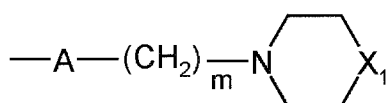
Según un aspecto de dicha realización preferida, n es 1.

5 Según un aspecto de dicha realización preferida, n' es 1.

Según un aspecto de dicha realización preferida, R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo hidroxilo, un grupo fluoroalquilo (C₁-C₃), un grupo fluoroalcoxi (C₁-C₃), un grupo -NR₁R₂, un grupo alcoxi (C₁-C₄) y un grupo alquilo (C₁-C₃).

10 Según un aspecto de dicha realización preferida, R representan alternativamente de forma independiente un átomo de hidrógeno, un grupo fluoroalquilo (C₁-C₃), un grupo fluoroalcoxi (C₁-C₃) o un átomo de halógeno.

15 Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo alquilo (C₁-C₃), un grupo hidroxilo, un grupo -NR₁R₂ o un grupo



20 , en donde A es O o NH, m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, siempre que cuando R' sea uno de tales grupos, n' sea 1 o 2 y cuando n' sea 2, el otro grupo R' sea diferente de dicho grupo.

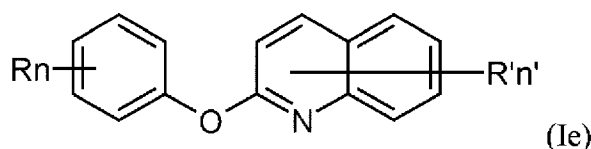
25 Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan alternativamente de forma independiente un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno.

Según un aspecto de dicha realización preferida, R'' es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C₁-C₄) o un grupo



35 , en donde m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, y preferiblemente R'' es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

Según una realización particular, otro objeto de la presente invención es el uso de un compuesto de fórmula (Ie)



45 en donde R, R', n y n' son como se ha definido anteriormente,
en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria.

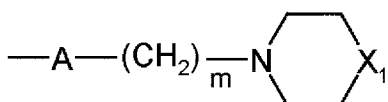
50 Según un aspecto de dicha realización preferida, n es 1.

Según un aspecto de dicha realización preferida, n' es 1.

55 Según un aspecto de dicha realización preferida, R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo hidroxilo, un grupo fluoroalquilo (C₁-C₃), un grupo fluoroalcoxi (C₁-C₃), un grupo -NR₁R₂, un grupo alcoxi (C₁-C₄) y un grupo alquilo (C₁-C₃).

Según un aspecto de dicha realización preferida, R representan alternativamente de forma independiente un átomo de hidrógeno, un grupo fluoroalquilo (C₁-C₃), un grupo fluoroalcoxi (C₁-C₃) o un átomo de halógeno.

60 Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido entre un grupo alquilo (C₁-C₃), un grupo hidroxilo, un grupo -NR₁R₂ o un grupo



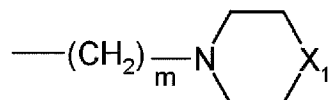
65

, en donde A es O o NH, m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, siempre que cuando R' sea uno de tales grupos, n' sea 1 o 2 y cuando n' sea 2, el otro grupo R' sea diferente de dicho grupo.

- 5 Según un aspecto de dicha realización preferida, R' representan alternativamente de forma independiente un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno.

Según un aspecto de dicha realización preferida, R'' es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C₁-C₄) o un grupo

10



- 15 , en donde m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, y preferiblemente R'' es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

Algunos compuestos de fórmula (I) son nuevos y se eligen entre (el número se puede encontrar en la tabla 1 más adelante):

- 20 – (8) 8-cloro-5-(3-(piperidin-1-il)propoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 – (9) 8-cloro-N⁴-(3-(piperidin-1-il)propil)-N²-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2,4-diamina
 – (10) 8-cloro-N-metil-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 25 – (11) 8-cloro-N⁴-(2-morfolinoetil)-N²-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2,4-diamina
 – (13) 4,8-dicloro-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 30 – (14) 8-cloro-N-(3-morfolinopropil)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 – (15) 8-cloro-6-(2-morfolinoetoxi)-N-(3-morfolinopropil)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 35 – (16) 8-cloro-5-(2-morfolinoetoxi)-N-(3-morfolinopropil)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 – (17) 8-cloro-6-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 – (18) 8-cloro-6-(2-(piperidin-1-il)etoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 40 – (19) 8-cloro-6-(3-(piperidin-1-il)propoxi)-N-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 – (20) 8-cloro-N-(3-fluoro-4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2-amina
 45 – (21) N-(5-bromo-4-(trifluorometil)piridin-2-il)-8-cloroquinolin-2-amina
 – (22) N²-(8-cloroquinolin-2-il)-N⁵-(3-(4-metilpiperazin-1-il)propil)-4-(trifluorometil)piridin-2,5-diamina
 – (28) 8-cloro-N-metil-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
 50 – (29) 8-cloro-5-(3-(piperidin-1-il)propoxi)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
 – (30) 8-cloro-N-(3-(piperidin-1-il)propil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
 55 – (31) 8-cloro-N-(2-morfolinoetil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
 – (32) 8-cloro-N-(2-(pirrolidin-1-il)etil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
 – (33) 8-cloro-N-(4-morfolinobutil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
 60 – (34) 8-cloro-N⁴-(3-(piperidin-1-il)propil)-N²-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2,4-diamina
 – (35) 4,8-dicloro-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
 65 – (36) 8-cloro-5-(2-morfolinoetoxi)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina

- (37) N¹-(4,8-dicloroquinolin-2-il)-4-(trifluorometoxi)benceno-1,2-diamina
- (38) 4,8-dicloro-N-(2-morfolinoetil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (39) 8-cloro-6-(2-morfolinoetoxi)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (40) 8-cloro-N²-(2-morfolinoetil)-N⁴-(3-(piperidin-1-il)propil)-N²-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2,4-diamina
- (41) 8-cloro-N-(2-morfolinoetil)-N-(2-nitro-4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (42) N¹-(8-cloroquinolin-2-il)-N¹-(2-morfolinoetil)-4-(trifluorometoxi)benceno-1,2-diamina
- (43) 8-cloro-5-(2-morfolinoetoxi)-N-(2-morfolinoetil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (44) N¹-(8-cloro-5-(2-morfolinoetoxi)quinolin-2-il)-4-(trifluorometoxi)benceno-1,2-diamina
- (46) 8-cloro-2-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)oxi)quinolina
- (47) 4-(2-((8-cloro-2-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)oxi)quinolin-6-il)oxi)etil)morfolina
- (48) 8-cloro-2-(4-(trifluorometoxi)fenoxi)quinolina
- (49) 4-(2-((8-cloro-2-(4-(trifluorometoxi)fenoxi)quinolin-6-il)oxi)etil)morfolina
- (50) 4-(2-((8-cloro-2-(4-(trifluorometoxi)fenoxi)quinolin-5-il)oxi)etil)morfolina
- (51) éster mono-[8-cloro-2-(4-trifluorometil-piridin-2-ilamino)-quinolin-6-ilo] del ácido fosfórico
- (52) éster mono-[2-(8-cloro-quinolin-2-ilamino)-5-trifluorometoxi-fenilo] del ácido fosfórico
- (53) éster mono-[8-cloro-2-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-quinolin-6-ilo] del ácido fosfórico
- y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Un compuesto de fórmula (I) incluye uno cualquiera de los compuestos de fórmula (Ia), (Ib), (Ic), (Id) y (Ie), así como combinaciones de los mismos. Los compuestos de fórmula (I) incluyen los compuestos (1) a (53), como se define en la Tabla I, y combinaciones de los mismos.

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

Las sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables adecuadas de los compuestos de fórmula (I) incluyen bromhidrato, tartrato, citrato, trifluoroacetato, ascorbato, clorhidrato, tartrato, triflato, maleato, mesilato, formiato, acetato y fumarato.

Los compuestos de fórmula (I) y/o sales de los mismos pueden formar solvatos o hidratos y la invención incluye todos tales solvatos e hidratos.

Los términos “hidratos” y “solvatos” simplemente significan que los compuestos (I) según la invención pueden estar en forma de hidrato o solvato, es decir, combinados o asociados con una o más moléculas de agua o disolvente. Esta es solo una característica química de tales compuestos, que se puede aplicar a todos los compuestos orgánicos de este tipo.

Los compuestos de fórmula (I) pueden comprender uno o más átomos de carbono asimétricos. Por lo tanto, pueden existir en forma de enantiómeros o de diastereoisómeros. Estos enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluidas las mezclas racémicas, están incluidos dentro del alcance de la presente invención.

En el contexto, por el término:

- “halógeno” se entiende cloro, flúor, bromo o yodo y, en particular, se refiere a cloro, flúor o bromo,
- “alquilo (C₁-C₅)”, como se utiliza en la presente memoria, se refiere respectivamente a un hidrocarburo C₁-C₅ saturado normal, secundario o terciario. Los ejemplos son, pero no se limitan a, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, butilo, pentilo,

– “cicloalquilo (C₃-C₆)”, como se utiliza en la presente memoria, se refiere respectivamente a un hidrocarburo cíclico saturado. Los ejemplos son, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo,

– “alcoxi (C₁-C₄)”, como se utiliza en la presente memoria, se refiere respectivamente al resto O-alquilo (C₁-C₄), en donde alquilo es como se ha definido anteriormente. Los ejemplos son, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, 1-propoxi, 2-propoxi, butoxi,

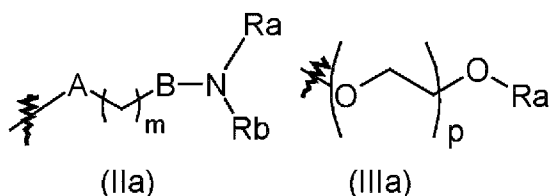
– “grupo fluoroalquilo” y “grupo fluoroalcoxi” se refieren respectivamente al grupo alquilo y al grupo alcoxi, como se ha definido anteriormente, estando dichos grupos sustituidos por al menos un átomo de flúor. Los ejemplos son los grupos perfluoroalquilo, tales como trifluorometilo o perfluoropropilo,

– “heterociclo saturado de 5 o 6 miembros”, como se utiliza en la presente memoria, se refiere respectivamente a un ciclo saturado que comprende al menos un heteroátomo. Los ejemplos son, pero no se limitan a, morfolina, piperazina, tiomorfolina, piperidina, pirrolidina,

– “paciente” puede extenderse a seres humanos o mamíferos, tales como gatos o perros.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar como se describe en los documentos WO2010/143170, WO2010/143169, WO2012/080953 y WO2010/143168, y/o como se describe más adelante en la presente memoria.

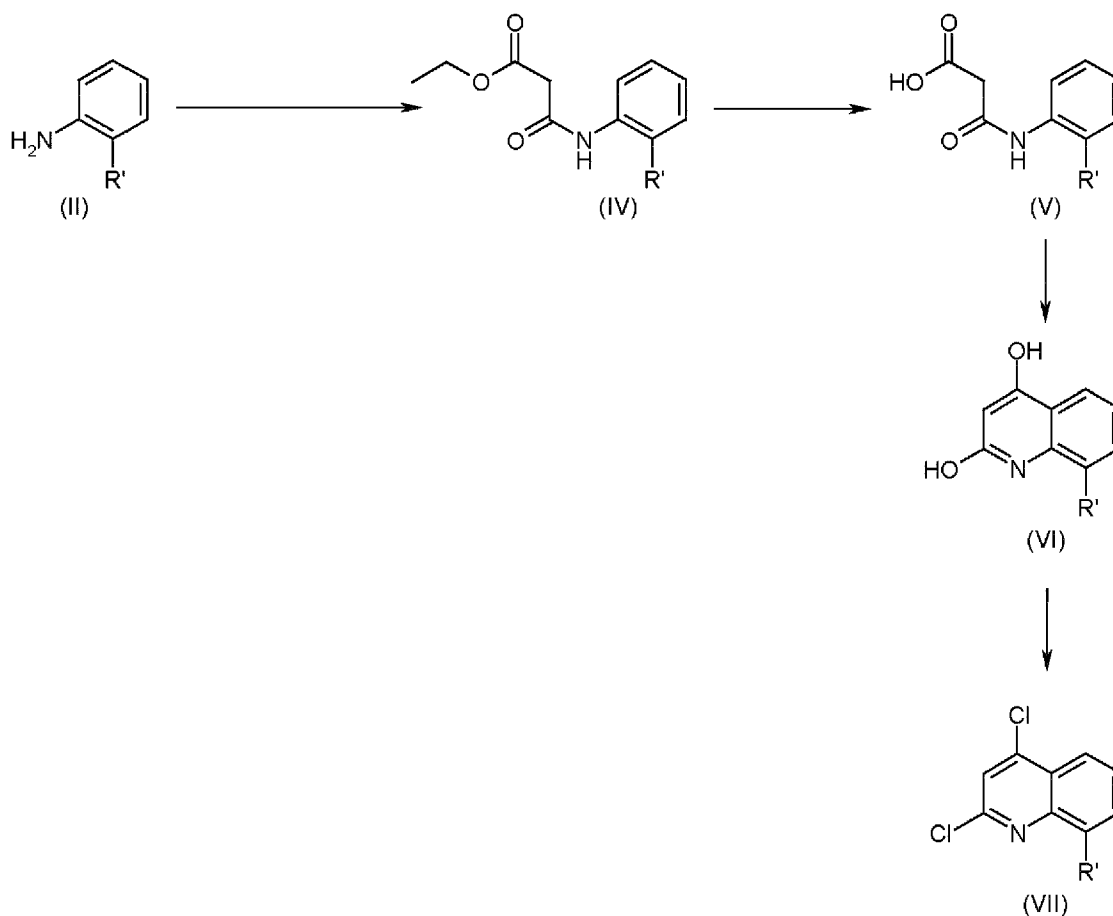
Más particularmente, los compuestos de fórmula (I) en donde R' representa un grupo elegido entre:



como se ha definido anteriormente, se pueden preparar según las vías de síntesis descritas en el documento WO2012/080953, más particularmente cuando A es O.

Cuando A es N, se puede implementar la siguiente vía de síntesis. Un derivado de quinolina de fórmula (VII) se puede sintetizar como un componente básico, antes de reacciones de acoplamiento cruzado adicionales.

Para obtener dicho compuesto de fórmula (VII), se puede llevar a cabo la siguiente secuencia de reacciones como se muestra en el esquema 1 más adelante.



Esquema 1

El compuesto de fórmula (II), en donde R' es diferente de H y es como se ha definido anteriormente y puede ser, en particular, un átomo de cloro, se puede colocar en piridina y, a continuación, el compuesto de fórmula (III) se puede añadir en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1,5, con respecto al compuesto de fórmula (II). La mezcla de reacción se puede agitar a una temperatura que varía de 110 a 150 °C, por ejemplo, a 130 °C, durante un tiempo que varía de 8 horas y 18 horas, por ejemplo 14 horas. Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se puede concentrar a presión reducida y el residuo resultante se puede diluir con un disolvente orgánico tal como diclorometano. A continuación, la fase orgánica se puede lavar con una solución acuosa saturada de una base inorgánica tal como Na_2CO_3 , secar con MgSO_4 , filtrar y concentrar a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (IV).

El compuesto de fórmula (IV) se puede colocar en una mezcla de THF/agua, a continuación se puede añadir hidróxido de sodio en una relación molar que varía de 1 a 1,5, por ejemplo 1,2, con respecto al compuesto de fórmula (IV), y la mezcla de reacción se puede agitar a temperatura ambiente durante un tiempo que varía de 8 horas a 18 horas, por ejemplo 14 horas. A continuación, se puede añadir ácido clorhídrico concentrado hasta alcanzar un pH de 2 y la solución resultante se puede extraer con un disolvente orgánico tal como acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se puede secar con MgSO_4 , filtrar y concentrar a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (V).

El compuesto de fórmula (V) se puede colocar en ácido polifosfórico, se puede añadir en una relación molar que varía de 5 a 15, por ejemplo 10, con respecto al compuesto de fórmula (V), y la mezcla de reacción se puede agitar a una temperatura que varía de 110 a 150 °C, por ejemplo a 130 °C, durante un tiempo que varía de 8 horas a 18 horas, por ejemplo 14 horas. Tras enfriar a temperatura ambiente, se puede añadir lentamente una solución acuosa de hidróxido de sodio con una molaridad que varía de 1 a 5 M, por ejemplo 2 M. El precipitado resultante se puede filtrar, enjuagar con agua y secar a presión reducida en un desecador para dar un compuesto de fórmula (VI).

El compuesto de fórmula (VI) se puede colocar en POCl_3 , se puede añadir en una relación molar que varía de 5 a 15, por ejemplo 10, con respecto al compuesto de fórmula (VI), y la mezcla de reacción se puede agitar a una temperatura que varía de 80 a 120 °C, por ejemplo a 100 °C, durante un tiempo que varía de 1 hora a 5 horas, por ejemplo 2 horas.

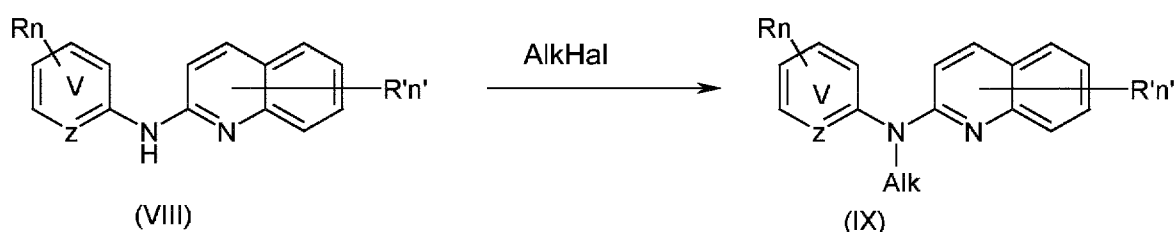
Tras enfriar a temperatura ambiente, se puede añadir agua lentamente. El precipitado resultante se puede filtrar, enjuagar con agua y secar a presión reducida en un desecador para dar un compuesto de fórmula (VII).

Dicho compuesto intermedio de fórmula (VII) se puede usar para formar un compuesto de fórmula (I) mediante acoplamiento cruzado con un derivado de anilina, un derivado de aminopiridina, un derivado de pirimidina, un derivado de hidroxipiridina, un derivado de fenol o un derivado de hidroxipirimidina, como se describe en los documentos WO2010/143170, WO2010/143169, WO2012/080953 y WO2010/143168 y/o se describe con más detalle a continuación.

El cloro en la posición 4 del compuesto intermedio de fórmula (VII) puede sustituirse posteriormente por una amina para formar un derivado de quinolina que porta un grupo de fórmula (IIa) con A = NH.

Cuando Q = N y R'' es diferente de H, se pueden implementar las siguientes vías, ilustradas por los esquemas 2 y 3.

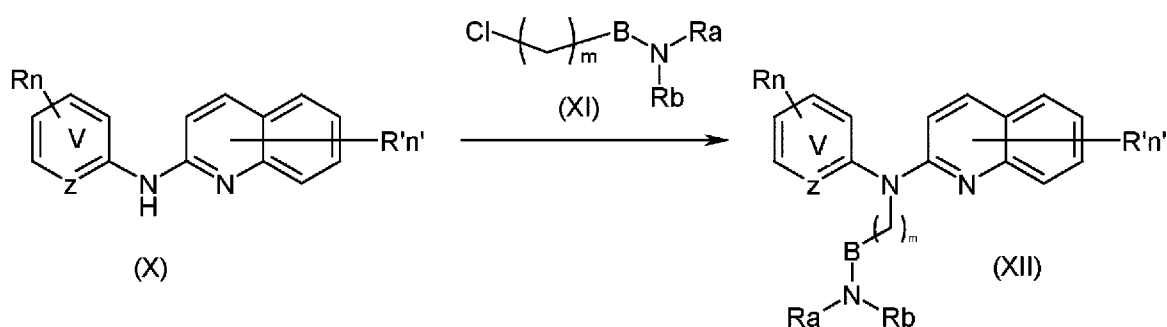
Para obtener los compuestos de fórmula (IX), se puede llevar a cabo la siguiente reacción como se muestra en el esquema 2 a continuación.



Esquema 2

El compuesto de fórmula (VIII), en donde Z, V, n, n', R y R' son como se ha definido anteriormente, se puede colocar en un disolvente polar anhidro tal como la N,N-dimetilformamida anhidra en presencia de AlkHal, en donde Alk representa un grupo alquilo (C₁-C₄) y Hal representa un átomo de halógeno, en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1,1, y en presencia de una base inorgánica tal como el terc-butoxido de potasio en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1,1, con respecto a compuesto de fórmula (VIII). La mezcla de reacción se puede agitar a temperatura ambiente durante un tiempo que varía de 7 horas a 24 horas, por ejemplo 16 horas. La mezcla de reacción se puede repartir entre agua y un disolvente orgánico tal como acetato de etilo. A continuación, las fases orgánicas se pueden recoger, lavar con una solución acuosa saturada de salmuera, secar con MgSO₄, filtrar y concentrar a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (IX).

Para obtener los compuestos de fórmula (XII), se puede realizar la siguiente reacción como se muestra en el esquema 3 a continuación.

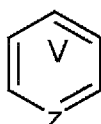


Esquema 3

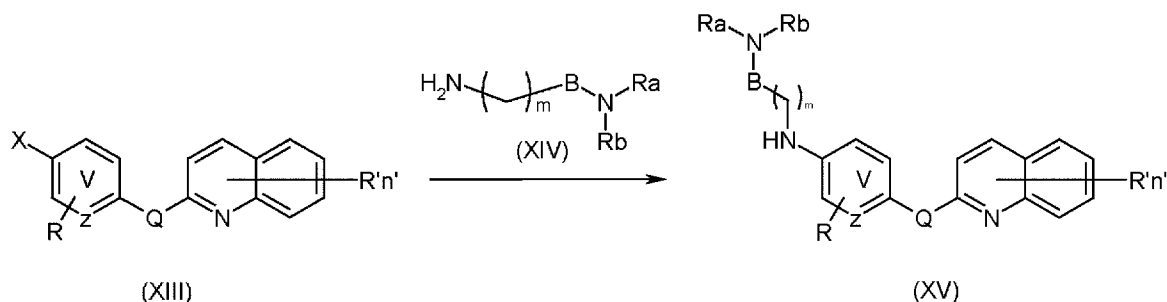
El compuesto de fórmula (X), en donde Z, V, n, n', R y R' son como se ha definido anteriormente, se puede colocar en un disolvente polar anhidro tal como N,N-dimetilformamida anhidra en presencia de NaH en una relación molar que varía de 2 a 5, por ejemplo 3, y la mezcla de reacción se puede agitar a temperatura ambiente durante un tiempo que varía de 10 minutos a 50 minutos, por ejemplo 30 minutos. A continuación, el compuesto de fórmula (XI), en donde m, B, Ra y Rb son como se ha definido anteriormente, se puede colocar en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1, en un disolvente polar anhidro tal como N,N-dimetilformamida anhidra en presencia de KI en una relación

molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1, y en presencia de una base orgánica tal como Et_3N en un relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1, con respecto al compuesto de fórmula (X), y la mezcla de reacción se puede agitar a temperatura ambiente durante un tiempo que varía de 10 minutos a 50 minutos, por ejemplo 30 minutos, en una atmósfera inerte de gas, por ejemplo argón. A continuación, el compuesto activado (X) se puede añadir al compuesto (XI) y la mezcla de reacción resultante se puede agitar a una temperatura que varía de 70 a 110 °C, por ejemplo a 90 °C, durante un tiempo que varía de 2 horas a 10 horas, por ejemplo 4 horas. Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se puede concentrar a presión reducida y el residuo resultante se puede diluir con un disolvente orgánico tal como acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se puede lavar con una solución acuosa saturada de salmuera, secar con MgSO_4 , filtrar y concentrar a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (XII).

Cuando



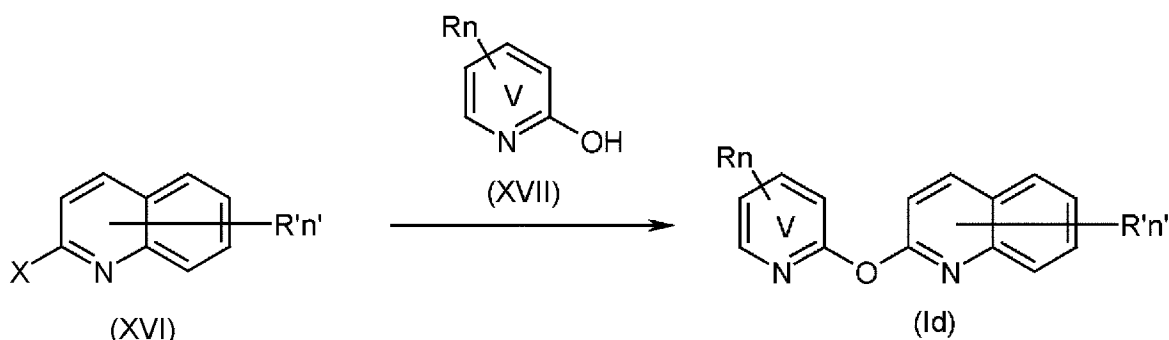
lleva una sustitución con un grupo amino de fórmula (IIa), en donde A es NH, se puede implementar la siguiente vía, como en el esquema 4.



Esquema 4

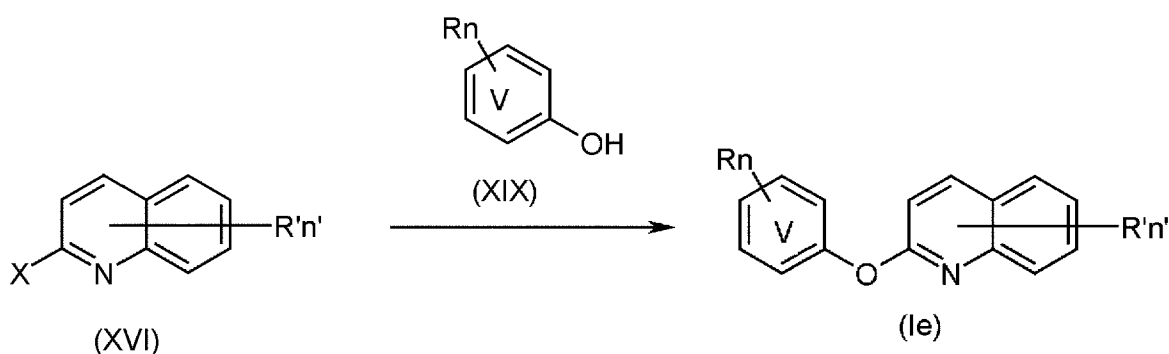
El compuesto de fórmula (XIII), en donde Z, V, n', R y R' son como se ha definido anteriormente y X es un átomo de halógeno tal como Br, se puede colocar en una mezcla de disolventes polares tal como una mezcla de dioxano/N,N-dimetilformamida. A continuación, se añade un compuesto de fórmula (XIV), en donde B, Ra y Rb son como se ha definido anteriormente, en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1,5, con respecto al compuesto de fórmula (XIII), en presencia de una base orgánica no nucleófila, tal como terc-butoxido de sodio o terc-butoxido de potasio, en una relación molar que varía de 2 a 5, por ejemplo 3, en presencia de una difosfina, tal como Xantphos (4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno) o X-Phos (2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo) en una cantidad que varía del 5 % en moles al 40 % en moles con respecto a la cantidad total del compuesto de fórmula (XIII), y en presencia de un catalizador, tal como $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ o $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ en una cantidad que varía del 2 % en moles al 15 % en moles con respecto a la cantidad total del compuesto de fórmula (XIII). La mezcla de reacción se puede calentar en un reactor de microondas a una temperatura que varía de 90 a 150 °C, por ejemplo a 120 °C, durante un tiempo que varía de 30 minutos a 100 minutos, por ejemplo 70 minutos. La mezcla de reacción se puede concentrar a presión reducida y el residuo se puede diluir con un disolvente orgánico tal como acetato de etilo. La fase orgánica se puede lavar con agua, decantar, secar con sulfato de magnesio, filtrar y concentrar a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (XV).

Los compuestos de fórmula general (Id), como se ha definido anteriormente, se pueden preparar según el esquema 5 a continuación.

**Esquema 5**

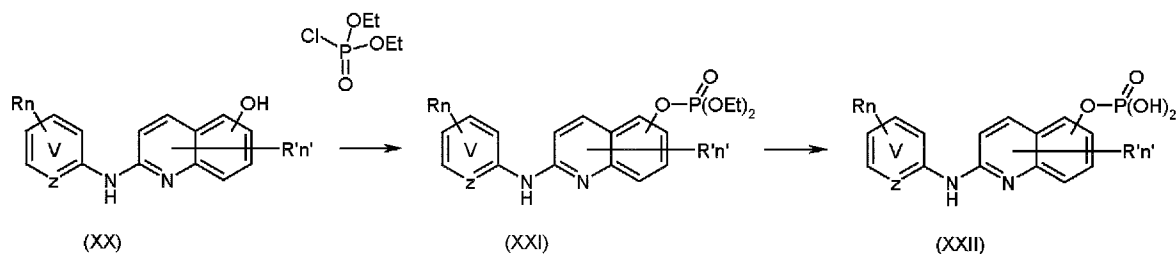
El compuesto de fórmula (XVI), en donde n' y R' son como se ha definido anteriormente y X es un átomo de halógeno tal como Cl, se puede colocar en un disolvente polar tal como N,N-dimetilformamida en presencia de una base inorgánica tal como Cs_2CO_3 en una relación molar que varía de 2 a 5, por ejemplo 3, y en presencia de CuI en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1. A continuación, el compuesto de fórmula (XVII), en donde R, V y n son como se ha definido anteriormente, se puede añadir en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1, con respecto al compuesto de fórmula (XVI). La mezcla de reacción se puede calentar en un reactor de microondas a una temperatura que varía de 130 a 170 °C, por ejemplo a 150 °C, durante un tiempo que varía de 30 minutos a 100 minutos, por ejemplo 50 minutos. Tras enfriar a temperatura ambiente, se puede añadir agua a la mezcla de reacción, los sólidos no disueltos se pueden filtrar a través de Celite y el filtrado resultante se puede extraer con un disolvente orgánico tal como acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se puede lavar con agua y una solución acuosa saturada de salmuera, secar con MgSO_4 , filtrar y concentrar a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (Id).

Los compuestos de fórmula general (Ie), como se ha definido anteriormente, se pueden preparar según el esquema 6 a continuación.

**Esquema 6**

El compuesto de fórmula (XVI), en donde n' y R' son como se ha definido anteriormente y X es un átomo de halógeno tal como Cl, se puede colocar en un disolvente polar tal como N,N-dimetilformamida en presencia de una base inorgánica tal como Cs_2CO_3 en una relación molar que varía de 2 a 5, por ejemplo 3, y en presencia de CuI en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1. A continuación, el compuesto de fórmula (XIX), en donde R, V y n son como se ha definido anteriormente, se puede añadir en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1, con respecto al compuesto de fórmula (XVI). La mezcla de reacción se puede calentar en un reactor de microondas a una temperatura que varía de 130 a 170 °C, por ejemplo a 150 °C, durante un tiempo que varía de 30 minutos a 100 minutos, por ejemplo 50 minutos. Tras enfriar a temperatura ambiente, se puede añadir agua a la mezcla de reacción, los sólidos no disueltos se pueden filtrar a través de Celite y el filtrado resultante se puede extraer con un disolvente orgánico tal como acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se puede lavar con agua y una solución acuosa saturada de salmuera, secar con MgSO_4 , filtrar y concentrar a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (Ie).

Más particularmente, los compuestos de fórmula (I) en donde R' representa un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄) se pueden preparar a partir de un compuesto de fórmula (XX) que tiene un grupo R' que es un grupo OH, mediante la siguiente vía:



Esquema 7

El compuesto de fórmula (XX), en donde Z, V, n, n', R y R' son como se ha definido anteriormente, se puede colocar en un disolvente de cloroalcano anhidro, tal como diclorometano anhidro, a 0 °C en una atmósfera inerte de gas, por ejemplo argón, en presencia de clorofosfato de dietilo en una relación molar de 1, y en presencia de una base orgánica tal como trietilamina en una relación molar que varía de 1 a 2, por ejemplo 1,2, con respecto al compuesto de fórmula (XX). La mezcla de reacción se puede agitar a temperatura ambiente durante un tiempo que varía de 7 horas a 24 horas, por ejemplo 14 horas. A continuación, la mezcla de reacción se puede concentrar a presión reducida y el residuo resultante se puede repartir entre una solución acuosa de ácido clorhídrico con una molaridad que varía de 1 a 2 M, por ejemplo 1 M, y un disolvente orgánico tal como acetato de etilo. A continuación, las fases orgánicas se pueden recoger, lavar con una solución acuosa saturada de una base inorgánica tal como Na₂CO₃, secar con MgSO₄, filtrar y concentrar a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (XXI).

El compuesto de fórmula (XXI) se puede colocar en un disolvente aprótico polar tal como acetonitrilo, en presencia de bromuro de trimetilsililo en una relación molar que varía de 1 a 5, por ejemplo 4, con respecto al compuesto de fórmula (XXI). La mezcla de reacción se puede agitar bajo irradiación de microondas a una temperatura que varía de 50 a 70 °C, por ejemplo a 60 °C, durante un tiempo que varía de 15 horas a 60 minutos, por ejemplo 30 minutos. Tras enfriar a temperatura ambiente, se puede añadir lentamente una mezcla de MeOH/agua (95/5). El precipitado resultante se puede filtrar, enjuagar con agua y secar a presión reducida en un desecador para dar un compuesto de fórmula (XXII).

El mismo procedimiento se puede aplicar para obtener compuestos de fórmula (I) en donde R representa un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄), partiendo de un compuesto de fórmula (I) que tiene un grupo R que es un grupo OH.

Enfermedades inflamatorias

Por lo tanto, la invención también describe, pero no reivindica, un compuesto de fórmula (Ia), (Ib), (Ic), (Id) y (Ie) para uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria.

Sorprendentemente, los inventores pudieron demostrar que los compuestos de fórmula (I) conducían a una mejora espectacular de los signos asociados con enfermedades inflamatorias tales como la enfermedad intestinal inflamatoria (EII) y la artritis reumatoide (AR), basándose en dos modelos de ratón *in vivo*.

La capacidad de modulación de la inflamación de los compuestos de fórmula (I) se ha evaluado ahora en dos modelos de ratón establecidos para dos enfermedades inflamatorias: enfermedad intestinal inflamatoria (EII) y artritis reumatoide (AR). El modelo de ratón con colitis inducida por sulfato de dextrano de sodio (DSS) se ha utilizado para estudiar la enfermedad intestinal inflamatoria (véase Perše y Cerar; "Dextran Sodium Sulphate Colitis Mouse Model: Traps and Tricks"; Revista Journal of Biomedicine and Biotechnology (2012); 718617). El modelo de artritis inducida por colágeno se ha utilizado para estudiar la artritis reumatoide, como se muestra en Brand y col. ("Collagen-induced arthritis"; Nature Protocols; (2007); 2(5): 1269-75).

De hecho, los inventores han demostrado que la administración de un compuesto que pertenece a la fórmula (I) condujo *in vivo* a una mejora de la longitud del colon y a una disminución de las alteraciones en los órganos linfoides, tales como las placas de Peyer, en modelos de ratón con colitis inducida por DSS. Los inventores han demostrado además que la administración de un compuesto de fórmula (I) condujo a una disminución significativa de la hinchazón y a una disminución de los signos de inflamación basándose en un modelo de ratón con artritis inducida por colágeno.

Según la invención, una "inflamación" se caracteriza por dolor, calor, enrojecimiento e hinchazón, y puede ser el resultado de una infección, irritación o lesión.

Por lo tanto, una “*enfermedad inflamatoria*” se refiere a un grupo de enfermedades y/o trastornos causados por una inflamación excesiva o desregulada.

5 Según la invención, “*tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria*” puede referirse al tratamiento y/o prevención de una enfermedad inflamatoria, o a la inflamación en sí misma, que puede producirse junto con dicha enfermedad inflamatoria en un individuo.

10 Por lo tanto, un tratamiento y/o prevención de una enfermedad inflamatoria también incluye un tratamiento y/o prevención de la inflamación como tal.

Según la invención, “*tratar y/o prevenir*” una enfermedad inflamatoria incluye tratar, reducir la probabilidad de desarrollar o retrasar la aparición de dicha enfermedad inflamatoria.

15 Según la invención, un “*individuo*” puede referirse a un mamífero humano o no humano, y preferiblemente a un ser humano.

20 Las enfermedades inflamatorias de la invención reivindicada se enumeran en las reivindicaciones independientes. Los ejemplos preferidos de estas enfermedades se definen en las reivindicaciones dependientes.

En vista de lo anterior, en la presente memoria se describe, pero no se reivindica, un compuesto de fórmula (I) para usar en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria, que abarca la inflamación como tal y la inflamación asociada con una enfermedad inflamatoria.

25 Por lo tanto, en la presente memoria también se describe, pero no se reivindica, el uso de un compuesto de fórmula (I) para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria, que abarca la inflamación como tal y la inflamación asociada con una enfermedad inflamatoria.

30 Según otro aspecto, un compuesto de fórmula (I) se refiere a un compuesto (Ie), (Id), (8), (9), (10), (11), (44), (46), (47), (48), (49), (50), (51), (52), (53) o sus sales farmacéuticamente aceptables, ya sea solos o en combinación, para el uso como medicamento.

35 Según otro de sus objetivos, en la presente memoria se describe, pero no se reivindica, una composición farmacéutica que comprende un compuesto (Ie), (Id), (8), (9), (10), (11), (44), (46), (47), (48), (49), (50), (51), (52), (53) o sus sales farmacéuticamente aceptables, solos o en combinación.

40 En la presente memoria también se describe, pero no se reivindica, el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de una composición, tal como un medicamento, para tratar y/o prevenir la inflamación, que abarca la inflamación como tal y la inflamación asociada con una enfermedad inflamatoria.

En la presente memoria también se describe, pero no se reivindica, un método para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria, que incluye la inflamación como tal y la inflamación asociada con dicha enfermedad inflamatoria, y que comprende un paso de administración de un compuesto de fórmula (I) a un paciente que lo necesite.

45 miARN-124

50 Los microARN (miARN) son pequeños ARN monocatenarios no codificantes que pueden actuar en el citoplasma de una célula para provocar una expresión reducida de sus ARN mensajeros diana cognados o una traducción reducida del producto proteico del ARNm. Los miARN maduros tienen típicamente una longitud de aproximadamente 19-23 nucleótidos. Esta capacidad de los miARN para inhibir la producción de sus proteínas diana da como resultado la regulación de muchos tipos de actividades celulares, tales como la determinación del destino celular, la apoptosis, la diferenciación y la oncogénesis.

55 El miR-124 se clonó inicialmente en ratones. El precursor del miR-124 humano (o miRN-124 o miRNA-124 o micro ARN 124) se clonó a partir de células madre embrionarias. Hasta ahora se han identificado 9 haplotipos de precursores del miR-124 (Guo y col., PLoS ONE, 2009, 4(11):e7944), de los cuales 3 están presentes en el ser humano, el hsa-miR-124-1, el hsa-miR-124-2 y el hsa-miR-124-3. (Respectivamente, **Id. de sec. n.º: 1**, **Id. de sec. n.º: 2** e **Id. de sec. n.º: 3**).

60 El precursor del microARN miR-124 es una pequeña molécula de ARN no codificante. Los microARN maduros, de ~21 nucleótidos, se procesan a partir de secuencias precursoras en horquilla mediante la enzima Dicer. Las secuencias maduras son la **Id. de sec. n.º: 4** para miR-124-3p y la **Id. de sec. n.º: 5** para miR-124-5p.

65 La medición del nivel de expresión del miR-124 abarca la medición del nivel de expresión tanto de un precursor como de un miR-124 maduro.

En la presente memoria también se describe, pero no se reivindica, un compuesto de fórmula (I) para aumentar la expresión del miR-124 en una muestra biológica.

Por lo tanto, según otro de sus objetivos, en la presente memoria se describe un método *in vitro* o *ex vivo* para aumentar la expresión del miR-124 en una célula eucariota, que comprende al menos un paso de:

a) proporcionar una célula eucariota,

b) poner en contacto dicha célula con un compuesto derivado y, en particular, un compuesto de fórmula (I).

Métodos de selección de compuestos candidatos.

Un factor clave para el éxito del desarrollo de un determinado fármaco o vacuna es la posibilidad de evaluar su eficacia de manera eficiente y rápida. Por lo tanto, es fundamental contar con herramientas adecuadas, tales como biomarcadores específicos, en las cuales confiar para evaluar la eficacia de un fármaco o una vacuna.

Sorprendentemente, se ha descubierto que, durante la inflamación, el miR-124 desempeña un papel importante. De hecho, los inventores han demostrado que los compuestos de fórmula (I) son capaces de modular la expresión del miR-124. En particular, los inventores han demostrado que los compuestos de la invención podrían regular positivamente (aumentar hasta 100 veces) la expresión del miR-124 en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de donantes, aisladas mediante centrifugación en un gradiente de FICOLL™.

Debido a que los inventores han establecido actualmente que los compuestos de fórmula (I) son capaces de modular la expresión del miR-124, la invención se refiere al uso del miR-24 como biomarcador para analizar o evaluar la eficacia de un compuesto de fórmula I para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria según las reivindicaciones independientes 1, 4 y 6. La invención reivindicada siempre se refiere a un compuesto de fórmula I; las realizaciones que van más allá de la fórmula I se describen pero no se reivindican.

En particular, una “*muestra biológica*” adecuada para la invención puede ser un fluido biológico, tal como sangre, plasma o suero, saliva, un fluido intersticial o una muestra de orina; una muestra celular, tal como un cultivo celular, una línea celular, una línea de células madre o una muestra que contiene células mononucleares de sangre periférica (PBMC), una biopsia de tejido, tal como un tejido oral, un tejido gastrointestinal, piel, una muestra de mucosa oral, o una pluralidad de muestras de un ensayo clínico. La muestra puede ser una muestra bruta o puede purificarse en diversos grados antes del almacenamiento, el procesamiento o la medición.

En particular, una muestra biológica adecuada para la invención es una célula mononuclear de sangre periférica (PBMC) o una muestra que contiene PBMC. Por lo tanto, una muestra biológica de la invención se puede procesar a partir de sangre entera periférica utilizando técnicas comunes en la técnica, tales como la centrifugación en gradiente de densidad y, más particularmente, el gradiente FICOLL™.

Las muestras de PBMC, especialmente las que se han procesado utilizando un gradiente FICOLL™, tienden a contener linfocitos (células T, células B y células NK), monocitos y células dendríticas. En los seres humanos, las frecuencias de estas poblaciones varían de un individuo a otro.

Por lo tanto, y de manera no limitativa, una célula eucariota incluye uno cualquiera de los tipos de células como se ha definido anteriormente, tales como linfocitos (células T, células B y células NK), monocitos y células dendríticas.

El paso de recolectar muestras biológicas para los usos y métodos de la invención se realiza antes de practicar la invención y no es un paso de un uso o un método según la invención.

Se pueden tomar muestras para la evaluación del miARN durante cualquier intervalo deseado. Por ejemplo, las muestras se pueden tomar cada hora, dos veces al día, diariamente, semanalmente, mensualmente, cada dos meses, anualmente o similares. La muestra se puede analizar de inmediato o se puede almacenar para un posterior análisis.

Las muestras se pueden purificar antes de analizarlas. En algunas realizaciones, el miR-124 se puede aislar del contenido celular restante antes del análisis. Además, las moléculas del miR-124 se pueden separar del resto del ARNm de la muestra, si se desea. Por ejemplo, el miR-124 se puede separar del ARNm basándose en las diferencias de tamaño antes de realizar el análisis.

El valor de referencia de control que se utilizará para comparar el nivel de expresión medido del miR-124 en una muestra biológica analizada se obtiene de una muestra de control.

Las muestras de control se pueden tomar de varias fuentes. En algunas realizaciones, se toman muestras de control del paciente antes del tratamiento o antes de la presencia de la enfermedad (tal como una muestra de sangre de archivo). En otras realizaciones, las muestras de control se toman de un conjunto de miembros normales y no enfermos de una población. En otra realización, se puede realizar un ensayo celular en un cultivo celular de control, por ejemplo,

que no se ha tratado con el compuesto experimental o se ha tratado con un compuesto de referencia, tal como DMSO, metilcelulosa (MC) o agua.

Según una realización, para la determinación o monitorización de una enfermedad inflamatoria en un paciente, se puede obtener un valor de referencia de control a partir de una muestra biológica aislada obtenida de un individuo o grupo de individuos que se conoce que no padecen tal afección.

Según otra realización, para la determinación o monitorización de la eficacia de un tratamiento para una enfermedad inflamatoria en un paciente, se puede obtener un valor de referencia de control a partir de una muestra biológica aislada obtenida de un individuo o grupo de individuos que se sabe que no padecen tal(es) afección(es) y/o que no reciben el tratamiento cuya eficacia se desea determinar o monitorizar. Alternativamente, se puede obtener un valor de referencia de control a partir de una muestra biológica aislada obtenida de un paciente que padece una enfermedad inflamatoria y que recibe un tratamiento cuya eficacia se desea determinar o monitorizar, tomándose la muestra biológica aislada del paciente antes de la administración del tratamiento.

El experto en la técnica dispone de numerosos métodos para medir la presencia o el nivel de expresión del biomarcador miR-124.

Por ejemplo, se pueden usar ensayos o matrices de ácidos nucleicos para evaluar la presencia y/o el nivel de expresión del miR-124 en una muestra.

La secuencia del miR-124 se puede usar para preparar un nucleótido correspondiente que actúe como sonda o cebador complementario para usar en diferentes ensayos de ácidos nucleicos para detectar la expresión o presencia del biomarcador miR-124 en la muestra, tales como, aunque no de forma limitativa, transferencias Northern y métodos basados en PCR (p. ej., PCR con retrotranscripción en tiempo real o qRT-PCR). Se pueden utilizar métodos tales como la qRT-PCR para cuantificar con precisión la cantidad de miARN en una muestra.

Las sondas o cebadores sentido y antisentido según la invención se pueden obtener utilizando todos los procesos conocidos por el experto en la técnica, en particular los que se describen en Sambrook y col. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3.^a edición, 2001, Cold Spring Harbour, Nueva York).

Los métodos relacionados con la detección y cuantificación de ARN o ADN son bien conocidos en la técnica. El experto en la técnica puede consultar, por ejemplo, Wang y col. (1989), Proc Natl Acad Sci USA, vol. 86: 917-921), de Wong y col. (2005, Bio Techniques, vol. 39 (1): 75-85), de Nolan y col. (2006, Nat Protoc, vol. 1(3): 1559-1582) y de Klinck y col. (2008, Cancer Research, vol. 68: 657-663), o también una revisión general publicada por Bustin (2000, revista Journal of Molecular Endocrinology, vol. 25: 169-193).

Una sonda de ácido nucleico aislada adecuada para medir la presencia o el nivel de expresión del miR-124 es una sonda de ácido nucleico capaz de hibridarse específicamente con un miR-124, tal como un precursor o un miR-124 maduro.

Tal sonda de ácido nucleico puede comprender de 18 a 30 nucleótidos, en particular de 20 a 27, preferiblemente de 20 a 25, preferiblemente 20, 22 o 25, y más preferiblemente aproximadamente 25 nucleótidos. Como se ha indicado anteriormente, tales sondas de ácido nucleico se pueden preparar según cualquier método conocido en la técnica.

Los métodos y fórmulas para predecir la temperatura de hibridación óptima para una sonda determinada y una diana determinada son bien conocidos en la técnica.

Por lo tanto, el experto en la técnica puede calcular fácilmente una temperatura de hibridación óptima basándose en un conjunto de sondas, en una secuencia diana determinada, y con condiciones particulares de hibridación.

De manera ventajosa, la temperatura de hibridación óptima de dichas sondas está entre 40 °C y 60 °C, y más particularmente entre 45 °C y 55 °C, y preferiblemente es de aproximadamente 48 °C.

Como ejemplos de tampones útiles para hibridar una sonda de ácido nucleico de la invención con un biomarcador de la invención, se pueden mencionar: como tampón de hibridación, un tampón que comprende MES 100 mM, [Na⁺] 1 M, EDTA 20 mM, Tween-20 al 0,01 %; como tampón de lavado no riguroso, un tampón que comprende SSPE 6X, Tween-20 al 0,01 %, y como tampón de lavado riguroso, un tampón que comprende MES 100 mM, [Na⁺] 0,1 M, Tween-20 al 0,01 %.

En una realización, un método para la detección y cuantificación de ácidos nucleicos puede ser un método basado en tintes fluorescentes, en donde la concentración de ácidos nucleicos se evalúa midiendo la intensidad de fluorescencia de los ligandos, tales como los tintes, que se unen a dichos ácidos nucleicos. Los tintes fluorescentes son bien conocidos en la técnica.

Alternativamente, dicho ácido nucleico se puede cuantificar utilizando espectrofotometría.

En otra realización, un método para la detección y cuantificación de ácidos nucleicos puede ser un método basado en la hibridación. Tales métodos basados en la hibridación pueden incluir técnicas de PCR y PCR cuantitativa (qRT-PCR o q-PCR) o técnicas basadas en transcriptasa/polimerasa inversa. De manera ventajosa, dicho método puede comprender, o combinarse además con, un paso de secuenciación.

Estos métodos pueden comprender (i) un paso de extracción de los ARNm celulares, (ii) un paso de retrotranscripción del ARNm en ADN utilizando una transcriptasa inversa y (iii) un paso de amplificación del ADN a partir del ADN obtenido en el paso anterior. Usualmente, partiendo de la misma muestra, se amplifican los siguientes ácidos nucleicos: (a) el ADN obtenido tras un paso de retrotranscripción del ARNm diana y (b) un ADN o una pluralidad de ADN obtenidos tras la retrotranscripción de los ARNm que las células expresan de forma constitutiva y constante (“genes constitutivos”), tales como los ARN codificados por los genes MRPL19, PUM1 y GADPH.

El ADN amplificado se puede cuantificar, después de la separación por electroforesis, y medir las bandas de ADN. Los resultados relacionados con los ARNm diana se expresan como unidades relativas en comparación con los ARNm codificados por genes “constitutivos”. En algunas realizaciones, el paso de separación de los ADN amplificados se logra después de la electroforesis en gel de agarosa y a continuación la tinción de las bandas de ADN con bromuro de etidio, antes de la cuantificación del ADN contenido en esas bandas de migración con densitometría. En otras realizaciones, se puede usar un dispositivo de microcanales en el que el ADN amplificado se separa mediante electroforesis capilar, antes de la cuantificación de la señal emitida utilizando un haz láser. Tal dispositivo puede ser un dispositivo LabChip®, por ejemplo de la serie “GX”, comercializado por la empresa Caliper LifeSciences (Hopkinton, MA, EE. UU.).

Los resultados cuantitativos obtenidos mediante la qRT-PCR a veces pueden ser más informativos que los datos cualitativos y pueden simplificar la estandarización de los ensayos y la gestión de la calidad. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los ensayos basados en qRT-PCR pueden ser útiles para medir los niveles de miARN durante los ensayos basados en células. El método de qRT-PCR también puede ser útil para monitorizar la terapia del paciente. Métodos basados en qRT-PCR disponibles comercialmente (p. ej., TaqmanR Array™)

Se puede usar cualquier plataforma de ensayo adecuada para determinar la expresión o presencia del miARN en una muestra. Por ejemplo, un ensayo puede estar en forma de una tira reactiva, una membrana, un chip, un disco, una tira de prueba, un filtro, una microesfera, un portaobjetos, una placa multipocillo o una fibra óptica. Un sistema de ensayo puede tener un soporte sólido al que se une un oligonucleótido correspondiente al miARN. El soporte sólido puede comprender, por ejemplo, plástico, silicio, metal, resina, vidrio, una membrana, una partícula, un precipitado, un gel, un polímero, una lámina, una esfera, un polisacárido, un capilar, una película, una placa o un portaobjetos. Los componentes del ensayo se pueden preparar y empaquetar juntos como un kit para detectar un miARN.

En algunas realizaciones, se puede preparar o adquirir una matriz de oligonucleótidos para analizar la actividad de un derivado de quinolina o de un candidato a fármaco en una muestra biológica. Una matriz contiene típicamente un soporte sólido y al menos un oligonucleótido en contacto con el soporte, donde el oligonucleótido corresponde a al menos una parte del biomarcador miR-124. En algunas realizaciones, la parte del biomarcador miR-124 comprende al menos 5, 10, 15, 20 o más bases.

Según una realización, la presencia o expresión del miR-124 se puede analizar en combinación con otros miARN que también se usan como biomarcadores. En tal realización, se puede utilizar una matriz para evaluar la expresión o presencia de múltiples miARN en una muestra, incluido el miRNA-124. Generalmente, el método comprende los siguientes pasos: a) poner en contacto la muestra con una matriz que comprende un conjunto de sondas en condiciones suficientes para que se produzca una unión específica; y b) examinar la matriz para detectar la presencia de cualquier etiqueta detectable, evaluando de este modo la cantidad de los miARN diana respectivos en la muestra. El uso de una matriz de expresión permite obtener un perfil de expresión del miARN para una muestra determinada.

Los métodos de preparación de ensayos o matrices para ensayar miARN son bien conocidos en la técnica y no es necesario describirlos con más detalle en este punto.

Las matrices de ácidos nucleicos se pueden utilizar para detectar la presencia o la expresión diferencial de miARN en muestras biológicas. Las matrices de polinucleótidos (tales como las matrices de ADN o ARN) típicamente incluyen regiones de polinucleótidos (“agentes de captura”), usualmente de diferente secuencia, dispuestas en una configuración predeterminada sobre un soporte. Las matrices son “direccionables”, en el sentido de que estas regiones (a veces denominadas “características de la matriz”) tienen diferentes ubicaciones (“direcciones”) predeterminadas en el soporte de la matriz. La región (es decir, una “característica” o “punto” de la matriz) en una ubicación (es decir, una “dirección”) predeterminada particular de la matriz detectará un miARN diana particular. Las matrices de polinucleótidos típicamente se fabrican sobre soportes planos, ya sea mediante la deposición de los polinucleótidos previamente obtenidos sobre el soporte de una manera específica del sitio o mediante la síntesis in situ específica del sitio de los polinucleótidos sobre el soporte. Las matrices para detectar la expresión del miARN se pueden fabricar mediante la deposición (p. ej., mediante métodos basados en contacto o inyección o fotolitografía) de unidades precursoras (tales como monómeros de nucleótidos o aminoácidos) o agentes de captura presintetizados.

Después de la deposición de los agentes de captura de polinucleótidos sobre el soporte, el soporte típicamente se procesa (p. ej., se lava y bloquea, por ejemplo) y se almacena antes del uso.

Una matriz para detectar la expresión del miARN tiene al menos dos, tres, cuatro o cinco sondas objeto diferentes. Sin embargo, en ciertas realizaciones, la matriz objeto puede incluir un conjunto de sondas que tiene al menos 10, al menos 20, al menos 50, al menos 100, al menos 200, al menos 500 o al menos 1000 o más sondas que pueden detectar un número correspondiente de miARN. En algunas realizaciones, las matrices objeto pueden incluir sondas para detectar al menos una parte o todos los miARN identificados de un organismo, o pueden incluir sondas ortólogas de múltiples organismos.

Una matriz de ácidos nucleicos se puede poner en contacto con una muestra o una muestra marcada que contiene analitos de miARN en condiciones que promuevan la unión específica del miARN en la muestra a uno o más de los agentes de captura presentes en la matriz para mostrar un patrón de unión observado. Este patrón de unión se puede detectar al interrogar la matriz. Por ejemplo, los miARN diana en la muestra se pueden marcar con una etiqueta adecuada (tal como un compuesto fluorescente) y, a continuación, la etiqueta se puede observar con precisión (tal como observar el patrón de fluorescencia) en la matriz después de la exposición de la matriz a la muestra. El patrón de unión observado puede indicar la presencia y/o concentración de uno o más componentes de miARN de la muestra.

El marcaje de los miARN se puede realizar mediante métodos bien conocidos en la técnica, tales como mediante la ADN-ligasa, la transferasa terminal o el marcaje de la cadena principal del ARN, etc. En algunas realizaciones, los miARN se pueden marcar con una etiqueta fluorescente. Los tintes fluorescentes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, tintes de xanteno, tintes de fluoresceína, tintes de rodamina, isotiocianato de fluoresceína (FITC), 6-carboxifluoresceína (FAM), 6-carboxi-2',4',7',4,7-hexaclorofluoresceína (HEX), 6 carboxi 4', 5' dicloro 2', 7' dimetoxifluoresceína (JOE o J), N,N,N',N' tetrametil 6 carboxi rodamina (TAMRA o T), 6 carboxi X rodamina (ROX o R), 5 carboxi rodamina 6G (R6G5 o G5), 6 carboxi rodamina 6G (R6G6 o G6) y rodamina 110; tintes de cianina, p. ej., tintes de Cy3, Cy5 y Cy7; tintes Alexa, p. ej., Alexa-fluor-555; cumarina, dietilaminocumarina, umbeliferona; tintes de bencimida, p. ej., Hoechst 33258; tintes de fenantridina, p. ej., Texas Red; tintes de etidio; tintes de acridina; tintes de carbazol; tintes de fenoxazina; tintes de porfirina; tintes de polimetina, tintes BODIPY, tintes de quinolina, pireno, clorotriazinilo de fluoresceína, RI 10, eosina, JOE, R6G, tetrametil rodamina, lisamina, ROX, naftofluoresceína y similares.

En algunas realizaciones, se puede preparar o adquirir una matriz de oligonucleótidos para evaluar la actividad inmunomoduladora, por ejemplo, de Affymetrix. La matriz puede contener un soporte sólido y una pluralidad de oligonucleótidos que entran en contacto con el soporte. Los oligonucleótidos pueden estar presentes en ubicaciones específicas y direccionables sobre el soporte sólido; correspondiendo cada uno a al menos una parte de las secuencias de miARN que pueden expresarse diferencialmente tras el tratamiento de un derivado de quinolina o un candidato a fármaco en una célula o un paciente. Las secuencias de miARN comprenden al menos una secuencia de miR-124.

Cuando se utiliza una matriz para evaluar los miARN, un método típico puede contener los pasos de 1) obtención de la matriz que contiene las sondas objeto unidas a la superficie; 2) hibridación de una población de miARN con las sondas unidas a la superficie en condiciones suficientes para proporcionar una unión específica; (3) lavados posteriores a la hibridación para eliminar los ácidos nucleicos no unidos en la hibridación; y (4) detección de los miARN hibridados. Los reactivos utilizados en cada una de estos pasos y sus condiciones de uso pueden variar según la aplicación particular.

La hibridación se puede realizar en condiciones de hibridación adecuadas, cuya rigurosidad puede variar según se desee. Las condiciones típicas son suficientes para producir complejos sonda-diana en una superficie de matriz entre miembros de unión complementarios, es decir, entre sondas objeto unidas a la superficie y miARN complementarios en una muestra. En ciertas realizaciones, se pueden emplear condiciones de hibridación rigurosas. La hibridación se realiza típicamente en condiciones de hibridación rigurosas. Las técnicas de hibridación estándar que son bien conocidas en la técnica (p. ej., en condiciones suficientes para proporcionar la unión específica de los miARN diana en la muestra a las sondas de la matriz) se utilizan para hibridar una muestra con una matriz de ácidos nucleicos. La selección de las condiciones apropiadas, incluida la temperatura, la concentración de sal, la concentración de polinucleótidos, el tiempo de hibridación, la rigurosidad de las condiciones de lavado y similares, dependerá del diseño experimental, incluida la fuente de la muestra, la identidad de los agentes de captura, el grado de complementariedad esperado, etc., y se puede determinar como parte de un experimento de rutina para los expertos en la técnica. Generalmente, una “hibridación rigurosa” y unas “condiciones de lavado de hibridación rigurosas” en el contexto de la hibridación de ácidos nucleicos típicamente dependen de la secuencia y varían bajo diferentes condiciones experimentales. La hibridación se puede realizar durante un período de aproximadamente 12 a aproximadamente 24 horas. La rigurosidad de las condiciones de lavado puede influir en el grado en que las secuencias de miARN se hibridan específicamente con agentes de captura complementarios. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente que se pueden utilizar condiciones de hibridación y lavado alternativas pero comparables para proporcionar condiciones de rigurosidad similar.

A modo de ilustración, en una realización, los experimentos de determinación del perfil de expresión del miARN se pueden realizar utilizando el Affymetrix Genechip miRNA Array 2.0 y siguiendo los protocolos descritos en el manual de instrucciones.

- 5 En una realización particular, dicha hibridación se puede realizar utilizando el kit de hibridación, lavado y tinción GeneChip® (Affymetrix Ref. n.º 900720). De manera ventajosa, dicha hibridación se realiza siguiendo los protocolos del fabricante.

- 10 Después del procedimiento de hibridación del miARN, los polinucleótidos unidos a la superficie de la matriz típicamente se lavan para eliminar los ácidos nucleicos no unidos. El lavado se puede realizar utilizando cualquier protocolo de lavado conveniente, en el que las condiciones de lavado son típicamente rigurosas, como se ha descrito anteriormente. Por ejemplo, se puede realizar un paso de lavado utilizando tampones de lavado comercializados por la empresa Affymetrix (Ref. n.º 900721 y n.º 900722). A continuación, la hibridación de los miARN diana con las sondas se detecta utilizando técnicas estándar de lectura de la matriz. La lectura de la matriz hibridada resultante se puede lograr, por
15 ejemplo, iluminando la matriz y leyendo la ubicación y la intensidad de la fluorescencia resultante en cada característica de la matriz para detectar complejos de unión miRNA-sonda.

- 20 Una modulación de la presencia o el nivel de expresión del miR-124 en relación con la referencia de control, tal como un valor de referencia de control de un donante sano, puede ser indicativo de una enfermedad inflamatoria. En particular, una presencia reducida o suprimida, o un nivel de expresión disminuido, de dicho miARN en relación con un valor de referencia de control (es decir, un valor de referencia de control de un donante sano) puede ser indicativo de una enfermedad inflamatoria.

- 25 Por lo tanto, en una realización, un uso de la invención puede comprender obtener o medir un nivel de expresión del miR-124 en una muestra biológica aislada y comparar dicho nivel de expresión medido con un valor de referencia de control. La modulación observada de dicho nivel medido en relación con dicho valor de referencia de control puede ser indicativo de una enfermedad inflamatoria, o indicativo del tratamiento de dicha enfermedad inflamatoria.

- 30 Un aumento o regulación positiva del nivel de expresión del miR-124 en presencia de un candidato a fármaco, en relación con un valor de referencia de control (es decir, sin el tratamiento con el candidato a fármaco, tal como un derivado de quinolina), es indicativo de que un candidato a fármaco se presume eficaz para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria.

- 35 Por consiguiente, cuando el miR-124 de una muestra *“aumenta”* o se *“regula positivamente”* en una muestra biológica, en comparación con un valor de referencia de control, este aumento puede ser de aproximadamente el 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 90 %, 100 %, 200 %, 300 %, 500 %, 1000 %, 5000 % o más del valor de referencia de control comparativo (es decir, sin el tratamiento con el derivado de quinolina).

- 40 En particular, el nivel de expresión medido del miR-124 puede aumentar al menos dos veces, preferiblemente al menos cuatro veces, preferiblemente al menos seis veces, preferiblemente al menos ocho veces y más preferiblemente al menos diez veces con respecto a dicho valor de referencia de control.

- 45 Según una realización preferida, el nivel de expresión medido del miR-124 puede aumentar 100 veces con respecto a dicho valor de referencia de control.

- Según una realización, se puede implementar un uso o un método según la invención para optimizar la posología de un paciente. Los pacientes pueden responder de manera diferente a un derivado de quinolina dado, en particular a un compuesto de fórmula (I), dependiendo de factores tales como la edad, la salud, los antecedentes genéticos, la presencia de otras complicaciones, la progresión de la enfermedad y la administración conjunta de otros fármacos. Puede ser útil utilizar el biomarcador miR-124 para evaluar y optimizar la posología, tal como la cantidad de dosis y/o el programa de dosis, de un derivado de quinolina en un paciente. En este sentido, el biomarcador basado en miR-124 también se puede utilizar para realizar un seguimiento y ajustar la eficacia del tratamiento de cada paciente a lo largo del tiempo. El biomarcador se puede utilizar para recopilar la información necesaria para realizar ajustes en el tratamiento de un paciente, aumentando o disminuyendo la dosis de un agente según sea necesario. Por ejemplo, a
55 un paciente que recibe un derivado de quinolina se le pueden realizar pruebas utilizando el biomarcador basado en miR-124 para ver si la dosis es efectiva o si es necesario implementar un plan de tratamiento más agresivo. La cantidad de fármaco administrado, el tiempo de administración, la frecuencia de administración y la duración de la administración pueden ajustarse entonces basándose en la medición del biomarcador miR-124.

- 60 El biomarcador miR-124 también se puede utilizar para realizar un seguimiento del cumplimiento del paciente durante los regímenes de tratamiento individuales o durante los ensayos clínicos. Esto se puede verificar a intervalos establecidos para garantizar que los pacientes incluidos en el ensayo estén tomando los medicamentos según las instrucciones. Además, a un paciente que recibe un derivado de quinolina se le pueden realizar pruebas utilizando el biomarcador miR-124 para determinar si el paciente cumple con la posología del plan de tratamiento. Un mayor nivel
65 de expresión del biomarcador en comparación con el de una muestra de control no tratada es indicativo de cumplimiento del protocolo.

Por lo tanto, y sin apartarse del alcance de la invención, se puede obtener un valor de referencia de control a partir de una célula eucariota derivada de: una muestra biológica procedente de un donante sano y/o un donante que no se trató previamente con un fármaco candidato dado, tal como un derivado de quinolina dado.

Se puede implementar un biomarcador de la invención para evaluar y realizar un seguimiento de la eficacia de los derivados de quinolina, en particular los compuestos de fórmula (I). En consecuencia, se puede medir la presencia o el nivel de expresión del miR-124 en una muestra biológica aislada obtenida de un paciente tratado previamente con un derivado de quinolina, tal como un compuesto de fórmula (I).

A continuación, la presencia o el nivel de expresión medido del miR-124 en una muestra biológica aislada se puede comparar con un valor de referencia de control.

Cuando se observa un aumento del nivel de expresión medido del miR-124 con respecto al valor de referencia de control, entonces el valor medido es indicativo de una actividad de los derivados de quinolina y, en particular, de los compuestos de fórmula (I).

En otra realización, cuando se observa un aumento del nivel de expresión medido del miR-124 con respecto al valor de referencia de control, entonces el valor medido puede ser indicativo de la capacidad de respuesta de un paciente a un tratamiento con dichos derivados de quinolina, en particular dichos compuestos de fórmula (I).

En otra realización, cuando se observa un aumento del nivel medido con respecto al valor de referencia de control, entonces el valor medido es indicativo de la eficacia de un tratamiento con dichos derivados de quinolina, en particular dichos compuestos de fórmula (I).

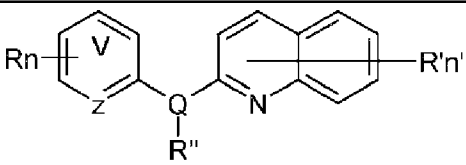
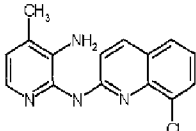
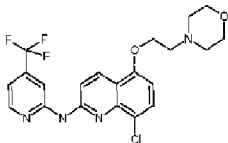
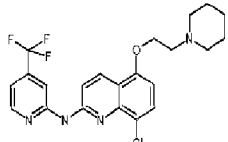
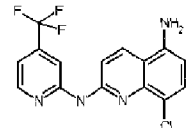
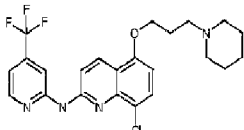
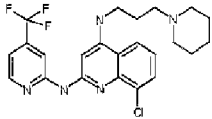
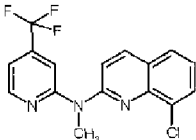
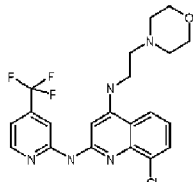
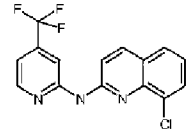
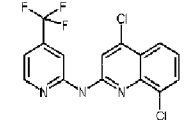
En otra realización, cuando se observa un aumento del nivel de expresión medido del miR-124 con respecto al valor de referencia de control, entonces el valor medido es indicativo de la eficacia terapéutica de dichos derivados de quinolina, en particular dichos compuestos de fórmula (I), como un agente terapéutico para prevenir y/o tratar una enfermedad inflamatoria.

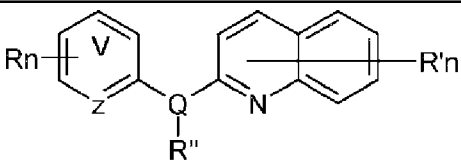
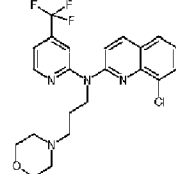
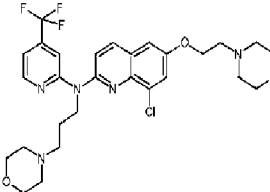
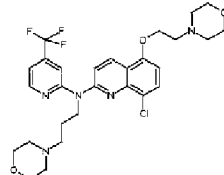
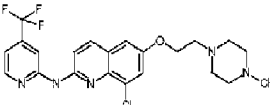
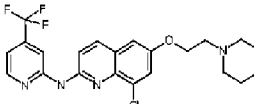
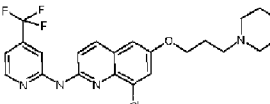
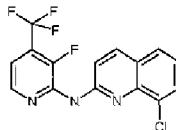
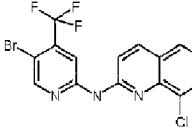
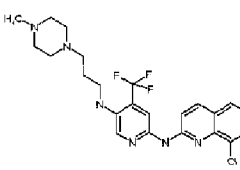
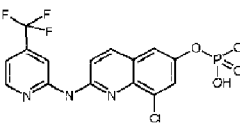
En otra realización, cuando se observa un aumento del nivel de expresión medido del miR-124 con respecto al valor de referencia de control, entonces el valor medido es indicativo de la eficacia terapéutica de una posología particular de dichos derivados de quinolina, en particular dichos compuestos de fórmula (I), como un agente terapéutico para prevenir y/o tratar una enfermedad inflamatoria, si el valor de referencia de control se mide a partir de una muestra biológica obtenida de un paciente tratado con otra posología.

Las estructuras químicas y los datos espectroscópicos de algunos compuestos de fórmula (I) de la invención se ilustran respectivamente en la Tabla I a continuación y en la Tabla II (véanse los ejemplos).

Tabla I

Fórmula (Ia)	
1	
2	
3	

	
	Fórmula (Ia)
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	

	
	Fórmula (Ia)
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
51	

Fórmula (Ib)	
23	
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	
31	
32	
33	

Fórmula (Ib)	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	
41	
42	
43	

Fórmula (Ib)	
44	
52	
53	
Fórmula (Ic)	
45	
Fórmula (Id)	
46	
47	
Fórmula (Ie)	
48	
49	
50	

Ejemplos

Ejemplo 1: 8-cloro-N4-(3-(piperidin-1-il)propil)-N2-(4-(trifluorometil)piridin-2-il)quinolin-2,4-diamina; compuesto (9)

Se colocó o-cloroanilina (5,3 ml, 50 mmol, 1 equiv) en piridina (8 ml). A continuación, se añadió malonato de dietilo (11,4 ml, 75 mmol, 1,5 equiv) y la mezcla de reacción se agitó a 130 °C durante 14 horas. Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo resultante se diluyó con diclorometano. A continuación, la fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de Na₂CO₃, se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para proporcionar 2-[(2-clorofenil)carbamoil]acetato de etilo (2,7 g, 22 %).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 9,74 (br s, 1H), 8,38 (dd, J = 8,1, 1,5 Hz, 1H), 7,40 (dd, J = 8,1, 1,5 Hz, 1H), 7,28 (td, J = 8,1, 1,5 Hz, 1H), 7,07 (td, J = 8,1, 1,5 Hz, 1H), 4,30 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,54 (s, 2H), 1,34 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

Se colocó 2-[(2-clorofenil)carbamoil]acetato de etilo (2,4 g, 9,93 mmol, 1 equiv) en una mezcla de THF (9,9 ml)/agua (3,8 ml). A continuación, se añadió hidróxido de sodio (477 mg, 11,92 mmol, 1,2 equiv) y la mezcla de reacción se agitó durante 14 horas a temperatura ambiente. A continuación, se añadió ácido clorhídrico concentrado hasta alcanzar un pH de 2 y la solución resultante se extrajo con acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se secó con MgSO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar ácido 2-[(2-clorofenil)carbamoil]acético (2 g, 94 %).

RMN de ^1H (300 MHz, MeOD) δ 7,98 (dd, $J = 8,1, 1,5$ Hz, 1H), 7,45 (dd, $J = 8,1, 1,5$ Hz, 1H), 7,30 (td, $J = 8,1, 1,5$ Hz, 1H), 7,16 (td, $J = 8,1, 1,5$ Hz, 1H), 3,54 (s, 2H).

Una mezcla de reacción de ácido 2-[(2-clorofenil)carbamoil]acético (3,7 g, 17,32 mmol, 1 equiv) en ácido polifosfórico (17 g, 173,2 mmol, 10 equiv) se agitó a 130 °C durante 14 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y, a continuación, se añadió lentamente una solución acuosa 2 M de hidróxido de sodio. El precipitado resultante se filtró, se enjuagó con agua y se secó a presión reducida en un desecador para proporcionar 8-cloroquinolin-2,4-diol (3 g, 89 %).

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ 11,66 (br s, 1H), 10,40 (br s, 1H), 7,78 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,17 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 5,81 (s, 1H).

MS (ESI) $[\text{M}-\text{H}]^- = 194,1$

Una mezcla de reacción de 8-cloroquinolin-2,4-diol (1,5 g, 7,67 mmol, 1 equiv) en POCl_3 (7,1 ml, 76,7 mmol, 10 equiv) se agitó a 100 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y, a continuación, se añadió agua lentamente. El precipitado resultante se filtró, se enjuagó con agua y se secó a presión reducida en un desecador para proporcionar 2,4,8-tricloroquinolina (1,6 g, 90 %).

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ 8,21 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 8,14 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,78 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H).

Una mezcla de reacción de 2,4,8-tricloroquinolina (1 g, 4,30 mmol, 1 equiv), 2-amino-4-trifluorometilpiridina (768 mg, 4,73 mmol, 1,1 equiv), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (19 mg, 0,09 mmol, 2 % en moles), XantPhos (50 mg, 0,09 mmol, 2 % en moles) y Cs_2CO_3 (3,9 g, 12,04 mmol, 2,8 equiv) en $t\text{-BuOH}$ (17,2 ml) se calentó a 90 °C durante 2 días. Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se lavó luego con agua, se secó con MgSO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para proporcionar (4,8-dicloro-quinolin-2-il)-(4-trifluorometil-piridin-2-il)-amina (**13**) (588 mg, 38 %).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,40 (s, 1H), 8,46 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 8,06 (dd, $J = 8,1, 1,5$ Hz, 1H), 7,86 (dd, $J = 8,1, 1,5$ Hz, 1H), 7,81 (s, 1H), 7,40 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,22 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H).

MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 358,1$

Una mezcla de reacción de (4,8-dicloro-quinolin-2-il)-(4-trifluorometil-piridin-2-il)-amina (200 mg, 0,54 mmol, 1 equiv), 3-(piperidin-1-il)propan-1-amina (94 μl , 0,59 mmol, 1,1 equiv), CuI (10 mg, 0,05 mmol, 0,1 equiv), L-prolina (9 mg, 0,11 mmol, 0,2 equiv), carbonato de potasio (148 mg, 1,01 mmol, 2 equiv) en DMSO (1,4 ml) se agitó a 90 °C durante 24 horas en una atmósfera inerte de argón. A continuación, la mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y agua. Tras la decantación, la fase acuosa se extrajo adicionalmente con diclorometano. Las fases orgánicas se recogieron, se secaron con MgSO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar 8-cloro- N^4 -(3-piperidin-1-il-propil)- N^2 -(4-trifluorometil-piridin-2-il)-quinolin-2,4-diamina (**9**) (48 mg, 7 %).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,55 (s, 1H), 8,40 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,77 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,72 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,18 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,10 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,88 (s, 1H), 3,41-3,31 (m, 2H), 2,59 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,57-2,43 (m, 4H), 2,01-1,92 (m, 2H), 1,79-1,70 (m, 4H), 1,65-1,54 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 154,9, 154,0, 152,3, 148,5, 144,2, 132,2, 129,7, 121,7, 119,7, 118,4, 112,4, 109,8, 88,0, 59,6, 55,1, 44,9, 26,1, 24,4, 23,4.

MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 464,2$

Ejemplo 2: 2-N-(8-cloroquinolin-2-il)-5-N-[3-(4-metilpiperazin-1-il)propil]-4-(trifluorometil)piridina-2,5-diamina; compuesto (22)

Una mezcla de reacción de 2,8-dicloroquinolina (198 mg, 1,0 mmol, 1 equiv), 5-bromo-4-(trifluorometil)piridin-2-amina (241 mg, 1,0 mmol, 1 equiv), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (4,5 mg, 0,02 mmol, 2 % en moles), XantPhos (11,6 mg, 0,02 mmol, 2 % en moles) y Cs_2CO_3 (782 mg, 2,4 mmol, 2,4 equiv) en $t\text{-BuOH}$ (4 ml) se calentó en un reactor de microondas a 120 °C durante 70 minutos. Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el

residuo resultante se diluyó con acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se lavó luego con agua, se secó con MgSO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para proporcionar N-[5-bromo-4-(trifluorometil)piridin-2-il]-8-cloroquinolin-2-amina (**21**) (300 mg, 75 %).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,71 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,06 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,81 (m, 2H), 7,65 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,33 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,00 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H).

MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 403,7$

Una mezcla de reacción de N-[5-bromo-4-(trifluorometil)piridin-2-il]-8-cloroquinolin-2-amina (101 mg, 0,250 mmol, 1 equiv), 3-(4-metilpiperazin-1-il)propan-1-amina (64 μl , 0,375 mmol, 1,5 equiv), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (28 mg, 0,030 mmol, 12 % en moles), XantPhos (43,4 mg, 0,075 mmol, 30 % en moles) y terc-butóxido de sodio (72 mg, 0,75 mmol, 3 equiv) en una mezcla de dioxano (1 ml)/DMF (0,1 ml) se calentó en un reactor de microondas a 120 °C durante 70 minutos. Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se lavó luego con agua, se secó con MgSO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para proporcionar 2-N-(8-cloroquinolin-2-il)-5-N-[3-(4-metilpiperazin-1-il)propil]-4-(trifluorometil)piridin-2,5-diamina (**22**) (52 mg, 43 %).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,39 (s, 1H), 7,97-7,86 (m, 2H), 7,82 (br s, 1H), 7,73 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,56 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,23 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 3,34-3,22 (m, 2H), 2,80-2,44 (m, 10H), 2,37 (s, 3H), 1,87 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H).

MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 479,0$

Ejemplo 3: 8-cloro-N-metil-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina; compuesto (28)

La 8-cloro-N-[4-(trifluorometoxi)fenil]quinolin-2-amina, es decir, el compuesto (**24**), se sintetizó como en el documento WO2010/143169, en el ejemplo 5.

Una mezcla de reacción de 8-cloro-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina (**24**) (340 mg, 1,0 mmol, 1 equiv), terc-butóxido de potasio (124 mg, 1,1 mmol, 1,1 equiv) y yodometano (69 μl , 1,1 mmol, 1,1 equiv), en DMF (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. A continuación, la mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y agua. Las fases orgánicas se recogieron, se secaron con MgSO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar 8-cloro-N-metil-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina (**28**) (247 mg, 70 %).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,69 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,49 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,36-7,25 (m, 4H), 7,14 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,75 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,69 (s, 3H).

MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 353,1$

Ejemplo 4: 8-cloro-N-(3-(piperidin-1-il)propil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina; compuesto (30)

La 8-cloro-N-[4-(trifluorometoxi)fenil]quinolin-2-amina, es decir, el compuesto (**24**), se sintetizó como en el documento WO2010/143169, en el ejemplo 5.

Una mezcla de reacción de 8-cloro-N-[4-(trifluorometoxi)fenil]quinolin-2-amina (**24**) (500 mg, 1,47 mmol, 1 equiv) y NaH (177 mg, 4,43 mmol, 3 equiv) en DMF anhidra (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Una mezcla de reacción de clorhidrato de 1-(3-cloropropil)piperidina (292 mg, 1,47 mmol, 1 equiv), KI (245 mg, 1,47 mmol, 1 equiv) y Et_3N (205 μl , 1,47 mmol, 1 equiv) en DMF anhidra (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos en una atmósfera inerte de argón. A continuación, la quinolina activada se añadió a la cadena de piperidina y la mezcla de reacción resultante se agitó a 90 °C durante 4 horas. A continuación, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de salmuera, se secó con MgSO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para proporcionar 8-cloro-N-(3-(piperidin-1-il)propil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina (**30**) (472 mg, 69 %).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,73-7,63 (m, 2H), 7,48 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,39-7,26 (m, 4H), 7,13 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 6,67 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 4,26-4,14 (m, 2H), 2,52-2,33 (m, 6H), 2,11-1,97 (m, 2H), 1,64-1,52 (m, 4H), 1,45 (s, 2H).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 156,5, 147,3, 144,1, 143,5, 137,1, 130,8, 129,7, 129,1, 126,4, 124,7, 122,7, 122,4, 118,9 (t, $J = 222$ Hz), 112,5, 56,9, 54,5, 49,6, 25,6, 24,6, 24,3.

MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 464,4$

Ejemplo 5: 8-cloro-2-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)oxi)quinolina; compuesto (46)

Una mezcla de reacción de 2,8-dicloroquinolina (79 mg, 0,4 mmol, 1 equiv), 2-hidroxi-4-(trifluorometil)piridina (65 mg, 0,4 mmol, 1 equiv), CuI (76 mg, 0,4 mmol, 1 equiv) y Cs₂CO₃ (391 mg, 1,2 mmol, 3 equiv) en DMF (6 ml) se calentó en un reactor de microondas a 150 °C durante 50 minutos. Tras enfriar a temperatura ambiente, se añadió agua a la mezcla de reacción. Los sólidos no disueltos se filtraron a través de Celite y el filtrado resultante se extrajo dos veces con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de salmuera, se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para proporcionar 8-cloro-2-[[4-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]quinolina (**46**) (68 mg, 52 %).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,40 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 8,34 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 8,18 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,85 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,56 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 6,98 (s, 1H), 6,53 (d, J = 7,9 Hz, 1H).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 161,6, 151,2, 143,4, 142,3, 138,7, 138,2, 137,4, 133,4, 130,6, 129,1, 127,6, 126,7, 120,2, 119,7, 102,3.

MS (ESI) [M+H]⁺ = 325,1

Ejemplo 6: 8-cloro-2-(4-(trifluorometoxi)fenoxi)quinolina; compuesto (48)

Una mezcla de reacción de 2,8-dicloroquinolina (2 x 79 mg, 2 x 0,4 mmol, 1 equiv), 4-(trifluorometoxi)fenol (2 x 52 µl, 2 x 0,4 mmol, 1 equiv), CuI (2 x 76 mg, 2 x 0,4 mmol, 1 equiv) y Cs₂CO₃ (2 x 391 mg, 2 x 1,2 mmol, 3 equiv) en DMF (2 x 6 ml) se calentó en un reactor de microondas a 150 °C durante 50 minutos. Tras enfriar a temperatura ambiente, se añadió agua a la mezcla de reacción. Los sólidos no disueltos se filtraron a través de Celite y el filtrado resultante se extrajo dos veces con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de salmuera, se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para proporcionar 8-cloro-2-[4-(trifluorometoxi)fenoxi]quinolina **48** (212 mg, 78 %).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,12 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,46 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 7,38-7,22 (m, 3H), 7,12 (d, J = 8,8 Hz, 1H).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 161,5, 151,9, 145,9, 142,7, 140,5, 132,0, 130,3, 127,0, 126,4, 125,1, 122,8, 122,2, 119,0 (t, J = 255 Hz), 113,6.

MS (ESI) [M+H]⁺ = 340,1

Las estructuras de otros compuestos de la invención se han confirmado mediante espectros de RMN.

Tabla II

Ej.	Caracterizaciones
8	RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) δ 9,57 (s, 1H), 8,45 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 8,43 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 7,90 (br s, 1H), 7,66 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,17 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 2,56 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,50-2,39 (m, 4H), 2,17-2,04 (m, 2H), 1,66-1,59 (m, 4H), 1,51-1,43 (m, 2H). RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) δ 154,1, 153,8, 152,5, 148,7, 143,8, 133,5, 129,8, 122,9, 117,5, 113,2, 112,5, 109,9, 103,9, 67,2, 56,2, 54,8, 26,9, 26,1, 24,5. MS (ESI) [M+H] ⁺ = 465,4
9	RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) δ 9,55 (s, 1H), 8,40 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,77 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,18 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 5,88 (s, 1H), 3,41-3,31 (m, 2H), 2,59 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 2,57-2,43 (m, 4H), 2,01-1,92 (m, 2H), 1,79-1,70 (m, 4H), 1,65-1,54 (m, 2H). RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) δ 154,9, 154,0, 152,3, 148,5, 144,2, 132,2, 129,7, 121,7, 119,7, 118,4, 112,4, 109,8, 88,0, 59,6, 55,1, 44,9, 26,1, 24,4, 23,4. MS (ESI) [M+H] ⁺ = 464,2
10	RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) δ 8,53 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 8,10 (s, 1H), 8,04 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,76 (dd, J = 7,5, 1,2 Hz, 1H), 7,64 (dd, J = 7,5, 1,2 Hz, 1H), 7,43 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,30 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,87 (s, 3H). RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) δ 157,6, 155,8, 149,0, 143,4, 138,0, 131,9, 130,0, 126,3, 126,1, 124,4, 115,0, 113,1, 113,0, 111,6, 111,5, 36,3. MS (ESI) [M+H] ⁺ = 338,1

Ej.	Caracterizaciones
5	11 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,50 (s, 1H), 8,41 (br s, 1H), 8,14 (br s, 1H), 7,72 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,21 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,11 (s, 1H), 5,96 (s, 1H), 5,88 (s, 1H), 3,77 (s, 4H), 3,25 (s, 2H), 2,77 (s, 2H), 2,54 (s, 4H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 154,8, 153,7, 151,1, 148,5, 144,2, 132,4, 129,9, 122,4, 118,2, 118,0, 112,5, 109,9, 89,2, 67,2, 56,0, 53,2, 38,9. MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 452,1$
10	13 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,40 (s, 1H), 8,46 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 8,06 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,86 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,81 (s, 1H), 7,40 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,22 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 358,1$
15	14 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,51 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 7,99 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,75 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,63 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,39 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,29 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,14 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,48 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,77-3,59 (m, 4H), 2,57-2,33 (m, 6H), 2,13-1,97 (m, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 451,2$
20	15 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,47 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 7,89 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,49 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,38 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,08 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 6,99 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,45 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 4,21 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 3,83-3,64 (m, 8H), 2,87 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,70-2,56 (m, 4H), 2,56-2,36 (m, 6H), 2,12-1,96 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 580,4$
25	16 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,50 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 8,37 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,61 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,34 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,13 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 6,65 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,47 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 4,26 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 3,78-3,64 (m, 8H), 2,92 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,69-2,56 (m, 4H), 2,55-2,38 (m, 6H), 2,05 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 580,2$
30	17 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,47 (s, 1H), 8,41 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 8,24 (br s, 1H), 7,88 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,49 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,14 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 6,99 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,17 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 2,87 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 2,75-2,61 (m, 4H), 2,57-2,45 (m, 4H), 2,31 (s, 3H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 233,6$
35	18 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,48 (s, 1H), 8,42 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 7,94 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,78 (br s, 1H), 7,53 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,16 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 7,06-6,98 (m, 2H), 4,20 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,84 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,61-2,50 (m, 4H), 1,69-1,59 (m, 4H), 1,52-1,42 (m, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 450,9$
40	19 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,48 (s, 1H), 8,41 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,34 (s, 1H), 7,87 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,14 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 7,01-6,89 (m, 2H), 4,08 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 2,66-2,41 (m, 6H), 2,13-1,99 (m, 2H), 1,72-1,59 (m, 4H), 1,55-1,41 (m, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 465,0$
45	20 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,70 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 8,24 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,79 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,71 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,34 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,08 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 341,9$
50	21 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,71 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,06 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,81 (m, 2H), 7,65 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,33 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,00 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 403,7$
55	22 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,39 (s, 1H), 7,97-7,86 (m, 2H), 7,82 (br s, 1H), 7,73 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,56 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,23 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 3,34-3,22 (m, 2H), 2,80-2,44 (m, 10H), 2,37 (s, 3H), 1,87 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 479,0$
60	28 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,69 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,49 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,36-7,25 (m, 4H), 7,14 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,75 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,69 (s, 3H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 353,1$
65	29 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,26 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,93 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,54 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,21 (d, $J = 9,0$ Hz, 3H), 6,83 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,53 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,06 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,56 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,52-2,40 (m, 4H), 2,14-2,01 (m, 2H), 1,69-1,58 (m, 4H), 1,50-1,41 (m, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 480,3$
	30 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,73-7,63 (m, 2H), 7,48 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,39-7,26 (m, 4H), 7,13 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 6,67 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 4,26-4,14 (m, 2H), 2,52-2,33 (m, 6H), 2,11-1,97 (m, 2H), 1,64-1,52 (m, 4H), 1,45 (s, 2H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 156,5, 147,3, 144,1, 143,5, 137,1, 130,8, 129,7, 129,1, 126,4, 124,7, 122,7, 122,4, 121,8, 118,9, 112,5, 56,9, 54,5, 49,6, 25,6, 24,6, 24,3. MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 464,4$

Ej.	Caracterizaciones
5	31 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,74-7,65 (m, 2H), 7,50 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,42-7,28 (m, 4H), 7,14 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,34 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 3,66 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 2,78 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 2,59 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 452,3$
10	32 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,70 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,69 (dd, $J = 7,8, 1,2$ Hz, 1H), 7,50 (dd, $J = 7,8, 1,2$ Hz, 1H), 7,38-7,26 (m, 4H), 7,15 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,66 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,35 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,91 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,70-2,60 (m, 4H), 1,83-1,74 (m, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 436,1$
15	33 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,66 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 7,64 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,46 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,29-7,22 (m, 4H), 7,10 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,59 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,16 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 3,66 (t, $J = 4,8$ Hz, 4H), 2,46-2,36 (m, 6H), 1,78 (dt, $J = 15,0, 7,2$ Hz, 2H), 1,59 (dt, $J = 15,0, 7,2$ Hz, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 480,1$
20	34 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,80 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,75 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,58 (br s, 1H), 7,19 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,11 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,83 (s, 1H), 3,24 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,61-2,46 (m, 6H), 1,91 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 1,78-1,68 (m, 4H), 1,62-1,52 (m, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 479,3$
25	35 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,00 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,87 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,80 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,32 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,27 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,05 (s, 1H), 6,84 (br s, 1H). 36 RMN de ^1H (300 MHz, MeOD) δ 8,37 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 8,26 (d, $J = 9,3$ Hz, 2H), 7,60 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,22 (d, $J = 9,3$ Hz, 2H), 7,00 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,75 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,29 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 3,73 (t, $J = 4,8$ Hz, 4H), 2,94 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,66 (t, $J = 4,8$ Hz, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 468,1$
30	37 RMN de ^1H (300 MHz, MeOD) δ 7,92 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,71 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,63 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,24 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,83-6,79 (m, 1H), 6,64-6,58 (m, 1H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 388,0$
35	38 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,70 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,37 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,32 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,17 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,69 (s, 1H), 4,29 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 3,63 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 2,73 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 2,55 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 486,1$
40	39 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,78 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,44 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,21 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 6,95 (br s, 1H), 6,91 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 6,84 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 4,16 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 3,76 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 2,84 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,61 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 468,1$
45	40 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,67-7,59 (m, 2H), 7,39 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,26 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,07 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,79 (s, 1H), 4,34 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 3,82 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 3,69 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 3,05 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,78 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 2,66-2,60 (m, 4H), 2,57-2,48 (m, 6H), 1,82 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 594,4$
50	41 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,95 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,81 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,70 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,61-7,56 (m, 1H), 7,54 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,19 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,49 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,32-4,21 (m, 2H), 3,60 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 2,81 (t, $J = 6,3$ Hz, 2H), 2,49 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 497,1$
55	42 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,91 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,73 (dd, $J = 7,8, 1,2$ Hz, 1H), 7,58 (dd, $J = 7,8, 1,2$ Hz, 1H), 7,52 (br s, 1H), 7,22 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,05 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,82 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,73 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,54 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 3,21 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,60 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,40 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 467,2$
60	43 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 7,56 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,36 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,30 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 6,59 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 6,53 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,34 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 4,22 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 3,72 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 3,65 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 2,88 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 2,76 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 2,63-2,55 (m, 8H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 581,2$
65	44 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,25 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,24 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,64 (d, $J = 9,3$ Hz, 2H), 6,59 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,52 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,21 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 3,72 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 2,88 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,61 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H). 46 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,40 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 8,34 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,90 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,85 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,56 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 6,98 (s, 1H), 6,53 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 161,6, 151,2, 143,4, 142,3, 138,7, 138,2, 137,4, 133,4, 130,6, 129,1, 127,6, 126,7, 120,2, 119,7, 102,3. MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 325,1$

Ej.	Caracterizaciones
47	RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,33 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 8,08 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,60 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,10 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,50 (dd, $J = 7,5$, 1,8 Hz, 1H), 4,25 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,86-3,69 (m, 4H), 2,89 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H), 2,73-2,54 (m, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 454,2$
48	RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,12 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,73 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,46 (d, $J = 9,1$ Hz, 2H), 7,38-7,22 (m, 3H), 7,12 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 161,5, 151,9, 145,9, 142,7, 140,5, 132,0, 130,3, 127,0, 126,4, 125,1, 122,8, 122,2, 119,0 (t, $J = 255$ Hz), 113,6. MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 340,1$
49	RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,03 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,48 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,44 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,27 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,10 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,02 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,19 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 3,75 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H), 2,85 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 2,61 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 469,1$
50	RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,52 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,59 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,45 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,27 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,07 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,67 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,29-4,20 (m, 2H), 3,79-3,70 (m, 4H), 2,98-2,88 (m, 2H), 2,71-2,56 (m, 4H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 469,1$
51	RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ 10,84 (s, 1H), 9,57 (s, 1H), 8,58 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 8,31 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,49 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,36 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 420,1$
52	RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ 9,23 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 8,21 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,79 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,46-7,18 (m, 5H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 435,0$
53	RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ 9,92 (s, 1H), 8,27 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 8,15 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,35 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,17 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 435,0$

Datos farmacológicos

Los compuestos de la invención han sido objeto de ensayos farmacológicos que han demostrado su relevancia como sustancias activas en la terapia y, en particular, en la prevención de enfermedades inflamatorias.

Ejemplo 7: Modulación de la expresión del miR-124 mediante derivados de quinolina en un modelo in vivo de enfermedad intestinal inflamatoria

A. Material y métodos

Estudios *ex vivo*

Extracción de PBMC utilizando un gradiente FICOLL™

Para ello, las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de donantes sanos se aislaron mediante centrifugación en un gradiente FICOLL™ según protocolos estándar.

En resumen, se vierten 60-70 ml de capa leucocítica en un matraz de 175 cm², y el volumen se ajusta a 300 ml utilizando PBS para obtener una dilución de aproximadamente 5 veces la capa leucocítica. A continuación, se añaden 38 ml de capa leucocítica diluida a los tubos Falcon™ de 50 ml que comprenden 12 ml de FICOLL™ (Histopack-1077) a temperatura ambiente. La preparación se centrifuga durante 30 minutos a 515 rcf a temperatura ambiente. El anillo de linfocitos se recupera del tubo Falcon™ con una pipeta de transferencia (Pastette®) y, a continuación, se lava con PBS mediante centrifugación durante 10 minutos a 290 rcf y a temperatura ambiente hasta que el sobrenadante se vuelva claro.

A continuación, las células se vuelven a suspender a 37 °C hasta una densidad de $1,5 \times 10^6$ células/ml en el medio RPMI con Glutamax (Life Technologies Ref 61870-010) suplementado con suero fetal de ternero (FCS) al 10 % (Thermo Fischer Ref SV30160.03) y sin activación. Las células se incuban durante 48 horas a 37 °C bajo CO₂ al 5 %.

Tratamiento de células con moléculas analizadas

Para el análisis se utilizan placas de seis pocillos. Dentro de cada pocillo que comprende $3,10^6$ células/4 ml de RPMI suplementado con suero fetal de ternero al 10 % y 40 U/ml de IL-2 (Peprotech Ref 200-02) se añaden moléculas analizadas. Se añade DMSO al 100 % (4 μ l) al pocillo y se analiza como control negativo.

Cada condición analizada se configura como se describe a continuación y el volumen final correspondiente se ajusta en consecuencia en el pocillo:

- 1) Derivados de quinolina en DMSO al 100 %: (5 µM y volumen final 4 µl)
- 2) Medicamentos antirretrovirales: Maraviroc, Efavirenz, Darunavir, AZT (10 µM para todos, volumen final 4 µl).

Los pocillos se incuban durante tres días a 37 °C bajo CO₂ al 5 %. El medio se cambia (día 3) según los protocolos estándar. En resumen, las placas se centrifugan a 290 rcf durante 5 minutos y se retiran 3 ml de sobrenadante. A continuación, se añaden 3 ml de RPMI suplementado con suero fetal de ternero al 10 % y 40 U/ml de IL-2 con 3 µl de una solución madre de la molécula analizada a 5 mM en DMSO al 100 % o 3 µl de DMSO al 100 % como control negativo.

Extracción de miARN (día 6)

Las células se recogen en tubos Falcon™ de 15 ml, se centrifugan a 290 rcf durante 5 minutos y, a continuación, se lavan en 10 ml de PBS y se centrifugan a 290 rcf durante 5 minutos más. A continuación, las células se vuelven a suspender en 1 ml de PBS y se cuentan.

Se recogen 6 x 10⁶ células y se centrifugan a 290 rcf durante 5 minutos. El sedimento celular se lisa en 300 µl de tampón de lisis ML del kit de extracción de miARN Nucleospin® de Macherey Nagel (**Macherey Nagel Ref 740971**) y se almacena posteriormente a -20 °C.

A cada muestra se le añaden 5 µl de 2 x 10⁸ copias/µl del control de adición (CE_miR-39 de QIAGEN®, referencia 219610 de la **Id. de sec. n.º: 6**). La extracción de miARN se realiza siguiendo el protocolo del kit de extracción de miARN Nucleospin® de Macherey Nagel utilizando un volumen de elución para ARN de 50 µl y miARN de 30 µl, y se almacena posteriormente a -20 °C.

Retrotranscripción de miARN (día 6)

Se realiza el paso de retrotranscripción para 12 µl de miARN utilizando el kit de retrotranscripción (RT) MiScript RT II de QIAGEN® con el tampón MiScript HiSpec, y se almacena posteriormente a -20 °C.

PCR cuantitativa de miARN (día 6)

El paso de PCR cuantitativo se realiza utilizando el kit de PCR QIAGEN® miScript SYBR® Green y los ensayos de cebadores MiScript según el protocolo del fabricante.

Composición de la mezcla de reacción miScript para placas de 384 pocillos:

Mezcla	µl/reacción
Mezcla 2X SYBR® Green	5
Cebador universal 10X	1
Ensayo de cebadores 10X	1
H ₂ O	2
Volumen total de mezcla:	9
ADNc molde en H ₂ O (*)	1
Volumen final:	10
(*) ADNc preparado con el kit miScript II RT	

La reacción se repite por triplicado en una placa de 384 pocillos según el protocolo del fabricante en un sistema de PCR en tiempo real LightCycler® 380 Roche. Las condiciones de ciclo también se establecen según el protocolo del fabricante:

Paso	Tiempo	Temperatura
<u>Paso inicial de activación, ciclo de 3 pasos:</u>	15 min	95 °C
Desnaturalización	15 s	94 °C
Hibridación	30 s	55 °C
Extensión	30 s	70 °C

Paso	Tiempo	Temperatura
Número de ciclos	40 ciclos	

5 La cuantificación relativa de la qPCR es conocida en la técnica y se describe con más detalle a continuación.

Cuantificación relativa

10 A partir de una dilución a 1/10 en H₂O para la qPCR del miR-124 (Hs_miR-124a) o a 1/100 para la qPCR del gen de referencia/constitutivo (Hs_miR-26a y Hs_miR-191), utilizando ensayos de cebadores miScript (Hs_miR-124a, Hs_miR-26a y Hs_miR-191 o QIAGEN®, referencias ms00006622, ms00029239 y ms00003682).

15 El análisis se realiza utilizando modelos de cuantificación relativa sin corrección de eficiencia ($2^{-\Delta\Delta C_p}$) utilizando el promedio de los valores de los puntos de cruce (C_p) de los triplicados del miR-124 y el promedio del promedio de los triplicados del miR-26a y miR-191.

B. Resultados

20 Se evaluó un conjunto de donantes (1 a 7 donantes analizados para cada compuesto) en presencia de diferentes compuestos de fórmula (I).

Utilizando el protocolo descrito anteriormente, el cambio múltiplo medio (en comparación con el DMSO) en la expresión del miR-124 se evaluó con diferentes donantes (de 1 a 7) mediante cuantificación relativa, y se presenta en la Tabla III a continuación:

25 Tabla III

Molécula	Cambio múltiplo en comparación con las células tratadas con DMSO (cuantificación relativa)		Número de donantes analizados
	Media	SD	
1	31,96	7,25	3
23	45,09	7,44	3
35 45	34,21	6,22	3
2	66,68	13,86	2
3	48,52	12,71	3
40 24	32,48	21,76	7
12	16,33	15,12	4
4	24,37	-	1
45 25	14,28	6,50	2
5	26,76	8,45	3
6	30,94	12,28	3
26	6,13	1,18	2
50 27	1,42	0,19	3
7	7,54	-	1
28	22,20	8,25	3
55 8	7,97	2,66	3
30	9,88	8,75	4
9	111,77	75,69	2
60 10	21,08	13,46	3
48	23,98	11,01	4
46	6,23	4,38	6
11	17,42	-	1
65 Maraviroc	0,73	0,56	4

Molécula	Cambio múltiplo en comparación con las células tratadas con DMSO (cuantificación relativa)		Número de donantes analizados
	Media	SD	
Efavirenz	0,46	0,27	4
Darunavir	1,08	0,89	4
AZT	0,90	0,55	4

Por lo tanto, la evidencia experimental muestra que los derivados de quinolina de fórmula (I) anteriormente mencionados regulan positivamente los niveles de expresión del miR-124 en las PBMC, en comparación con un valor de referencia establecido en las PBMC no tratadas.

Por el contrario, ninguno de los antirretrovirales conocidos (Maraviroc, Efavirenz, Darunavir o AZT) tiene un efecto significativo sobre la sobreexpresión del miR-124 en las PBMC de cuatro donantes.

Ejemplo 8: Efecto de los derivados de quinolina en el modelo de colitis inducida por (DSS)

A. Material y métodos

Modelos de ratón

Modelo por DSS

Un modelo de ratón con enfermedad intestinal inflamatoria comúnmente utilizado es el modelo de colitis inducida por sulfato de dextrano de sodio (DSS). Los cambios histológicos típicos de la colitis aguda por DSS son la depleción de la mucina, la degeneración epitelial y la eventual destrucción de la barrera mucosa, lo que provoca inflamación y colitis.

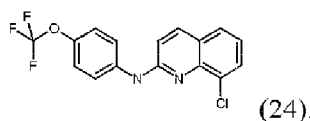
Tres grupos de ratones C57BL/6 de 6 semanas de edad (8 ratones cada uno) recibieron DSS en agua potable (2,5 %) durante 9 días (**figuras 1-2**). La pérdida de peso y el consumo de agua se midieron todos los días. Este último se determinó midiendo la pérdida de volumen del agua potable en los dispositivos respectivos. Los ratones se trataron por sonda con 200 µl de MC 0,5 sola (grupo DSS + MC) o junto con 40 mg/kg del compuesto 24 (grupo DSS + MC + 24). Una vez que los ratones de control han perdido hasta un 20 % de su peso (DSS), se interrumpe el tratamiento con DSS y se reemplaza con agua potable. Se continuó con los otros tratamientos durante 21 días.

Tres grupos de ratones C57BL/6 de 16 semanas de edad (7 ratones cada uno) recibieron DSS al 2,5 % en agua potable (**figura 3**). Los ratones se trataron por sonda con 200 µl de MC 0,5 sola (grupo DSS + MC) o junto con 40 mg/kg del compuesto 24 (grupo DSS + MC + 24). Los ratones se trataron con DSS durante 6 días, y una vez que los ratones de control perdieron hasta un 15 % de su peso (DSS), se sacrificó a todos los ratones y se les extrajo el colon para un posterior análisis.

Los colonos se midieron utilizando una regla y, para el análisis histológico, se preparó todo el colon según el método Swiss Roll (Whitem y col.; "MURINE COLITIS MODELING USING DEXTRAN SULFATE SODIUM (DSS)", J Vis Exp 2010 (35) 1652), se fijó con formaldehído y se incluyó en parafina. Se desparafinaron secciones de 4 µm y se tiñeron con hematoxilina y eosina y se analizaron para determinar el tamaño de la lesión y otras alteraciones (**figuras 4-6**). Se compararon ratones tratados y no tratados durante el ciclo de DSS con derivados de quinolina suspendidos en metilcelulosa o únicamente metilcelulosa (MC). El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Mann-Whitney, un asterisco indica una diferencia significativa ($p < 0,5$), dos asteriscos indican una diferencia muy significativa ($p < 0,05$)

B. Resultados

Los resultados que se presentan se han establecido utilizando el compuesto derivado de quinolina (24), cuya estructura se representa a continuación como referencia:



Después de 5 días de administración de DSS, los ratones tratados con el derivado de quinolina manifestaron una pérdida de peso de menos del 1 % en promedio, mientras que los ratones tratados con MC o no tratados mostraron una pérdida de peso de entre el 10 % y el 20 % (**figuras 1 y 2**).

Notablemente, se observó un mayor consumo de agua en los ratones tratados con el fármaco, lo que refleja el efecto amortiguador sobre la enfermedad de los derivados de la quinolina. El tratamiento con derivados de quinolina también

controló significativamente la pérdida de peso en los ratones durante la segunda administración de DSS, lo que indica que los ratones no dejan de responder y que los derivados de quinolina son adecuados para la administración repetida. Después de un ciclo de DSS, la longitud del colon en los ratones tratados con derivados de quinolina (6,4 cm +/- 0,6 cm) fue significativamente mayor en comparación con los ratones tratados solo con MC (5,9 cm +/- 0,8 cm) y no tratados (5,8 cm +/- 0,8 cm) (**figura 3**). Esta diferencia fue incluso más pronunciada en los ratones que recibieron dos ciclos de DSS. La longitud del colon en los ratones tratados con derivados de quinolina (5,7 cm +/- 0,9 cm) fue significativamente mayor en comparación con los ratones tratados solo con MC (4,3 cm +/- 0,5 cm) y no tratados (4,4 cm +/- 0,4 cm) (**figura 3**). Los ratones de las diferentes cohortes desarrollaron un número comparable de lesiones (**figura 4**), pero el tamaño promedio del área de lesión fue sorprendentemente menor en los ratones tratados con derivados de quinolina, es decir, 2,1 mm² frente a 8,4 mm² en ratones tratados solo con MC (**figura 5**). Esta diferencia se mantuvo en ratones expuestos a dos ciclos de DSS (3,8 mm² frente a 12,2 mm²).

Finalmente, se observó una disminución de las alteraciones en los órganos linfoides, tales como las placas de Peyer, después de dos ciclos de DSS, lo que sugiere que el tratamiento con derivados de quinolina modula las respuestas inmunitarias.

Ejemplo 9: Efecto de los derivados de quinolina en el modelo de artritis inducida por colágeno

A. Material y métodos

Modelos de ratón

Modelo de artritis inducida por colágeno:

Grupos de ratones DBA/1 de 9 a 10 semanas de edad se inmunizaron por vía intradérmica con colágeno bovino tipo II emulsionado en una proporción de 1:1 con adyuvante completo de Freund. Los ratones se infectaron 21 días después de la primera inmunización y se evaluó la apariencia fenotípica de la artritis monitorizando cada dos días el grosor del corvejón de cada pata trasera; el grosor se midió utilizando un calibre de esfera (de 0 a 10 mm) con un medidor de grosor. Los ratones se trataron diariamente durante dos semanas con candidatos a derivados de quinolina suspendidos en metilcelulosa o metilcelulosa (MC) sola y, a continuación, se monitorizó el desarrollo de la enfermedad. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Mann-Whitney, el asterisco indica una diferencia significativa ($p < 0,05$).

B. Resultados

Solo uno de cada diez ratones tratados con el compuesto derivado de quinolina probado (24) mostró signos de inflamación (en comparación, 8 de cada 10 ratones tratados con MC desarrollaron la enfermedad). Los ratones tratados con derivados de quinolina mostraron una disminución significativa de la hinchazón en comparación con los ratones tratados solo con MC (1,9 mm frente a aproximadamente 2,2 mm) (**figura 6**).

Por lo tanto, el resultado de las pruebas realizadas con los compuestos descritos muestra que dichos compuestos pueden ser útiles para tratar y/o prevenir enfermedades inflamatorias como se ha descrito anteriormente.

Para este propósito, se puede administrar una cantidad eficaz de dicho compuesto a un individuo que padece enfermedades inflamatorias.

Por lo tanto, un compuesto puede incorporarse en una composición farmacéutica, que puede contener una cantidad eficaz de dicho compuesto y uno o más excipientes farmacéuticos.

Los excipientes anteriormente mencionados se seleccionan según la forma de dosificación y el modo de administración deseado.

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

Se puede utilizar cualquier vía de administración. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (I) se puede administrar por vía oral, parenteral, intravenosa, transdérmica, intramuscular, rectal, sublingual, mucosa, nasal u otros medios. Además, un compuesto de fórmula (I) se puede administrar en forma de composición farmacéutica y/o forma farmacéutica unitaria.

En particular, las composiciones farmacéuticas se pueden administrar por vía oral y/o parenteral.

Las formas farmacéuticas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, cápsulas, comprimidos (incluidos comprimidos de rápida disolución y liberación retardada), polvos, jarabes, suspensiones orales y soluciones para la administración parenteral.

- 5 La composición farmacéutica también puede contener otro agente antiinflamatorio, bien conocido por el experto en la técnica, en combinación con un compuesto según la fórmula (I).

10

15

20

25

30

35

40

45

50

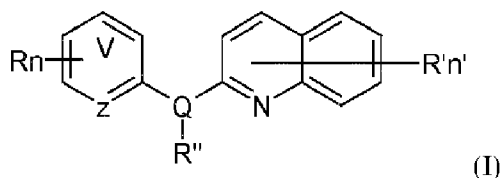
55

60

65

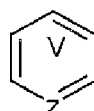
REIVINDICACIONES

1. Un uso *in vitro* o *ex vivo* del miR-124, como biomarcador para determinar la eficacia de un compuesto de fórmula (I) en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad inflamatoria seleccionada de un grupo que consiste en: una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo, una enfermedad inflamatoria de la piel, bronquitis y asma; en donde la fórmula (I) se define a continuación



en donde:

Z es C o N,
V es C o N,



significa un anillo aromático en donde V es C o N y cuando V es N, V está en orto, meta o para de Z, es decir, forma respectivamente un grupo piridina, piridazina, pirimidina o pirazina,

R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo metilo, un grupo metoxi, un grupo trifluorometilo, un grupo trifluorometoxi, un grupo amino, un átomo de halógeno y un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄) y, más particularmente, un átomo de flúor o cloro, un grupo trifluorometoxi y un grupo amino,

Q es N u O, siempre que R'' no exista cuando Q es O,

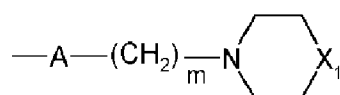
R₃ y R₄ representan independientemente un átomo de hidrógeno, Li⁺, Na⁺, K⁺, N⁺(Ra)₄ o un grupo bencilo,

Ra representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C₁-C₅) o un grupo cicloalquilo (C₃-C₆),

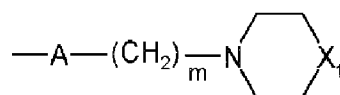
n es 1, 2 o 3,

n' es 1, 2 o 3,

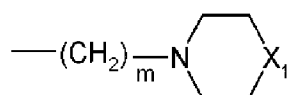
R' representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno y, más particularmente, un átomo de flúor o cloro, un grupo amino, un grupo metilo, un grupo -O-P(=O)-(OR₃)(OR₄) o un grupo



, en donde A es O o NH, m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, siempre que cuando R' sea uno de tales grupos, n' sea 1 o 2, y cuando n' sea 2, el otro grupo R' sea diferente de dicho grupo o, alternativamente, R' representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno y, más particularmente, un átomo de flúor o cloro, un grupo metilo o un grupo

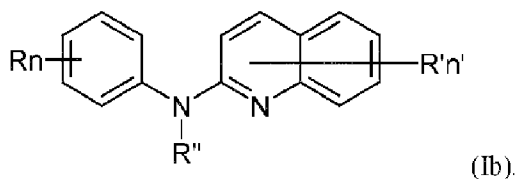
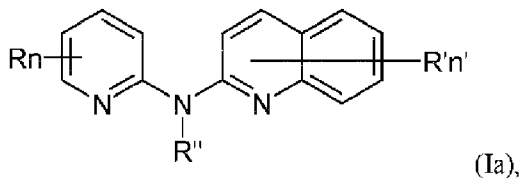


, en donde A es O o NH, m es 2 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, siempre que cuando R' sea uno de tales grupos, n' sea 1 o 2, y cuando n' sea 2, el otro grupo R' sea diferente de dicho grupo, R'' es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C₁-C₄) o un grupo

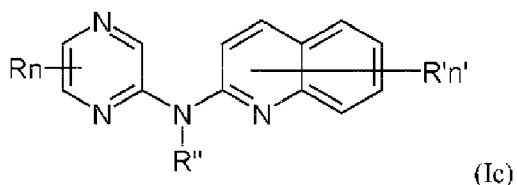


en donde m es 2 o 3 y X₁ es O, CH₂ o N-CH₃, o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. El uso *in vitro* o *ex vivo* según la reivindicación 1, en donde Q es N.
3. El uso *in vitro* o *ex vivo* según la reivindicación 1 o 2, seleccionado de



y



en donde R, R', R'', n y n' son como se define en la reivindicación 1 o 2.

4. Un método *in vitro* o *ex vivo* para determinar la eficacia de un compuesto de fórmula (I), como se especifica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria seleccionada de un grupo que consiste en: una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo, una enfermedad inflamatoria de la piel, bronquitis y asma; que comprende al menos un paso de:

- a) proporcionar una célula eucariota,
- b) poner en contacto dicha célula con un compuesto de fórmula (I),
- c) medir una expresión del miR-124 en dicha célula, y
- d) seleccionar el compuesto cuando el nivel de expresión del miR-124 medido en el paso c) aumenta con respecto a un valor de referencia.

5. El método según la reivindicación 4, en donde dicha célula eucariota es una célula mononuclear de sangre periférica (PBMC).

6. Un método *in vitro* o *ex vivo* para evaluar y realizar un seguimiento de la eficacia de un compuesto de fórmula (I), como se especifica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria en un individuo, seleccionándose dicha enfermedad inflamatoria de un grupo que consiste en: una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo, una enfermedad inflamatoria de la piel, bronquitis y asma; que comprende la medición de la presencia o el nivel de expresión del miR-124 en una muestra biológica aislada del individuo, en donde el nivel de expresión del miR-124 se compara con un valor de referencia de control, en donde un aumento con respecto al valor de referencia de control indica la eficacia.

7. El método según la reivindicación 6, en donde la muestra biológica se selecciona de una muestra de sangre, plasma, suero, saliva, líquido intersticial y orina; una muestra celular, tal como un cultivo celular, una línea celular, una línea de células madre, una muestra que contiene células mononucleares de sangre periférica (PBMC), una biopsia de tejido, tal como una muestra de tejido oral, tejido gastrointestinal, piel, mucosa oral o una pluralidad de muestras de un ensayo clínico, siendo dicha muestra una muestra bruta o purificada previamente en diversos grados antes del almacenamiento, procesamiento o medición.

8. El método según las reivindicaciones 6 o 7, en donde el valor de referencia de control se obtiene de una muestra biológica aislada de un individuo o grupo de individuos que se conoce que no padecen una enfermedad inflamatoria y/o que no reciben el tratamiento cuya eficacia se va a determinar o monitorizar o,

alternativamente, el valor de referencia de control se obtiene de una muestra biológica aislada de un individuo que padece una enfermedad inflamatoria y que recibe un tratamiento cuya eficacia se va a determinar o monitorizar, tomándose la muestra biológica aislada del individuo antes de la administración del tratamiento.

- 5 9. El método según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde el nivel de expresión del miR-124 se evalúa mediante la utilización de ensayos o matrices de ácidos nucleicos, tales como transferencias Northern y métodos basados en PCR.
- 10 10. El método según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en donde se implementa un método para la detección y cuantificación de ácidos nucleicos, que puede ser un método basado en la hibridación, incluyendo dichos métodos basados en la hibridación técnicas de PCR y PCR cuantitativa (qRT-PCR o q-PCR) o técnicas basadas en transcriptasa/polimerasa inversa.
- 15 11. El método según la reivindicación 10, en donde comprende o se combina además con un paso de secuenciación.
- 20 12. El método según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, en donde comprende (i) un paso de extracción de los ARNm celulares, (ii) un paso de retrotranscripción del ARNm en ADN utilizando una transcriptasa inversa y (iii) un paso de amplificación del ADN a partir del ADN obtenido en el paso anterior.
- 25 13. El método según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, en donde una modulación del nivel de expresión del miR-124 con respecto a la referencia de control, tal como un valor de referencia de control de un donante sano, es indicativo de una enfermedad inflamatoria.
- 30 14. El método según la reivindicación 13, en donde una disminución del nivel de expresión del miRNA-124 con respecto a un valor de referencia de control, tal como un valor de referencia de control de un donante sano, es indicativo de una enfermedad inflamatoria.
- 35 15. El uso o método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la enfermedad inflamatoria se selecciona de la lista que consiste en: una enfermedad inflamatoria de las articulaciones, una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo y una enfermedad inflamatoria de la piel.
- 40 16. El uso o método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la enfermedad inflamatoria se selecciona de la lista que consiste en: enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, osteoartritis, espondilitis anquilosante, psoriasis, síndrome de Sjögren, bronquitis, asma e inflamación asociada con el carcinoma de colon.
- 45 17. El uso o método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la enfermedad inflamatoria es una enfermedad inflamatoria del tracto digestivo.
- 50 18. El uso o método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la enfermedad inflamatoria es una enfermedad intestinal inflamatoria.
- 55 19. El uso o método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde la enfermedad inflamatoria es la artritis reumatoide.
- 60
- 65

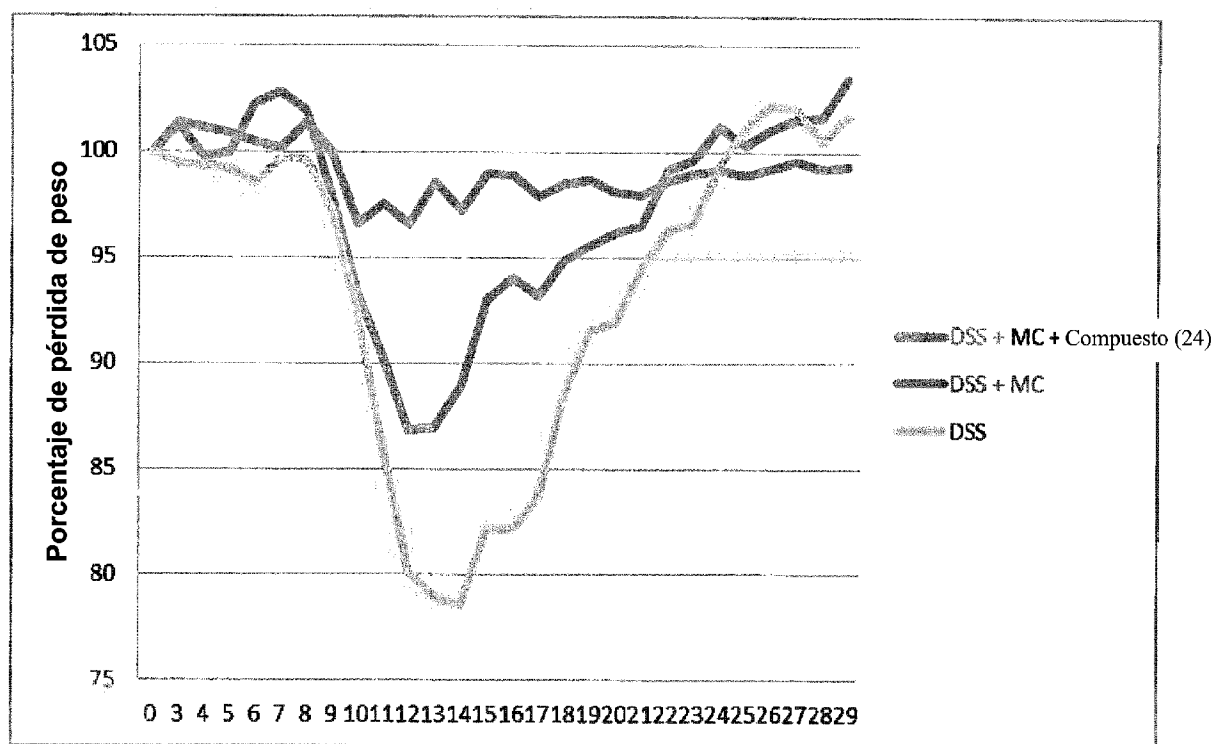


Figura 1

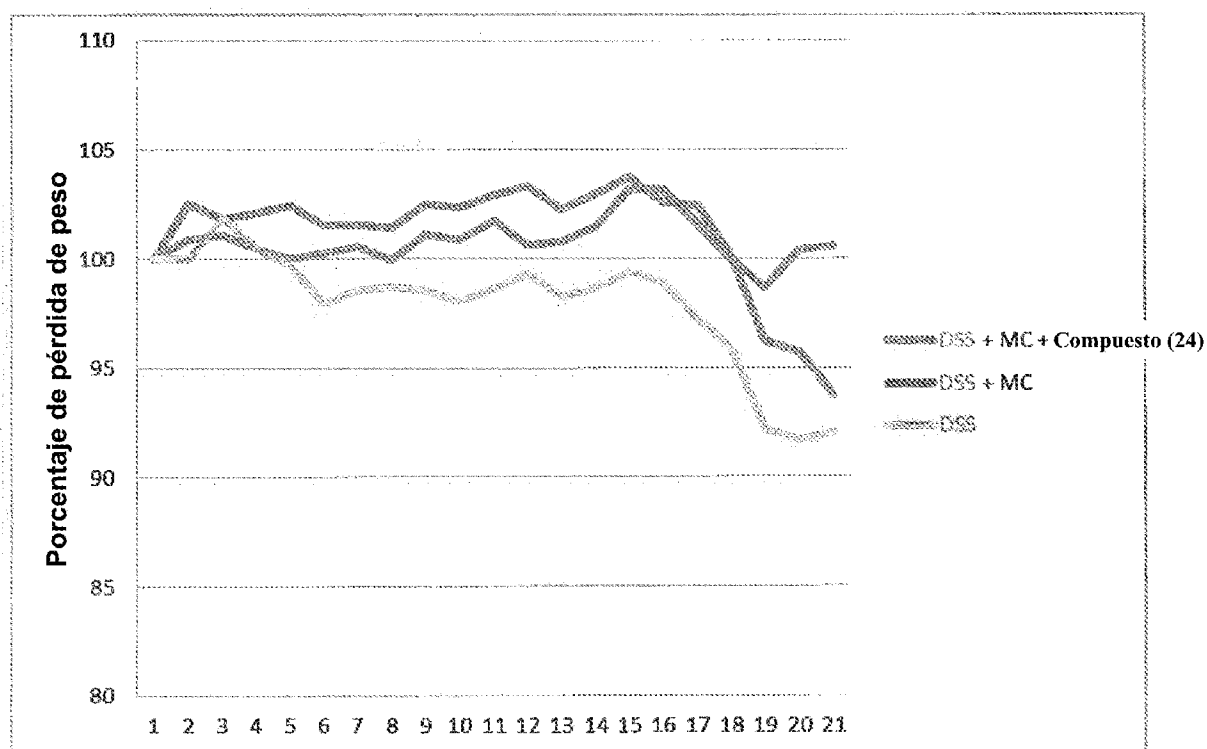


Figura 2

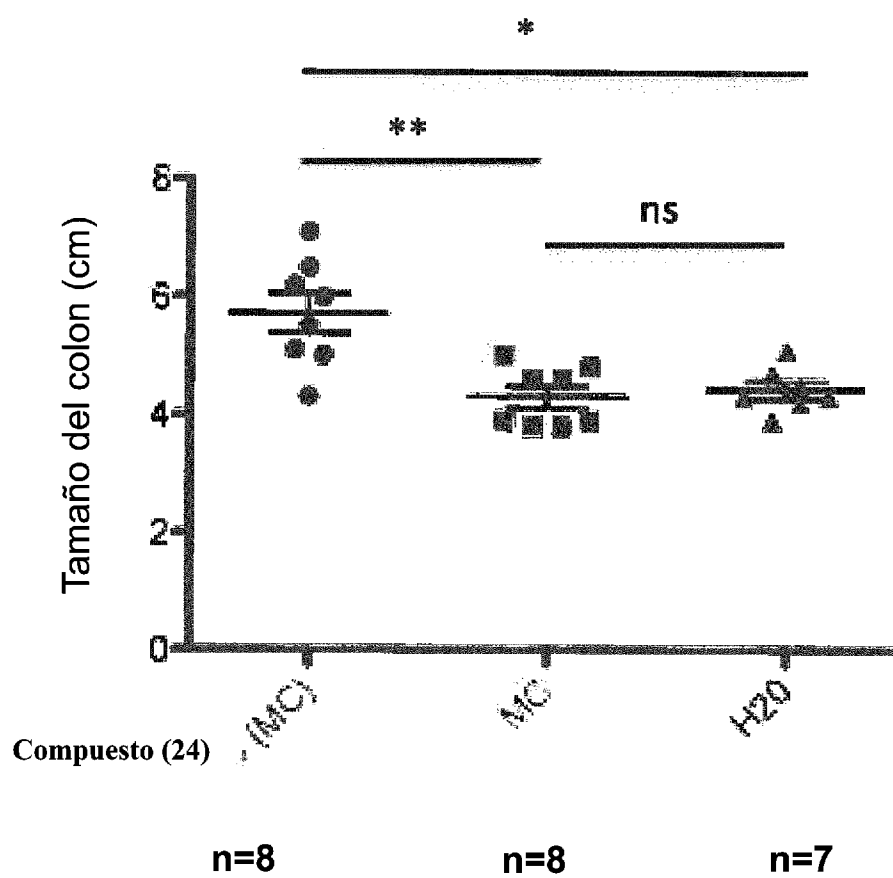


Figura 3

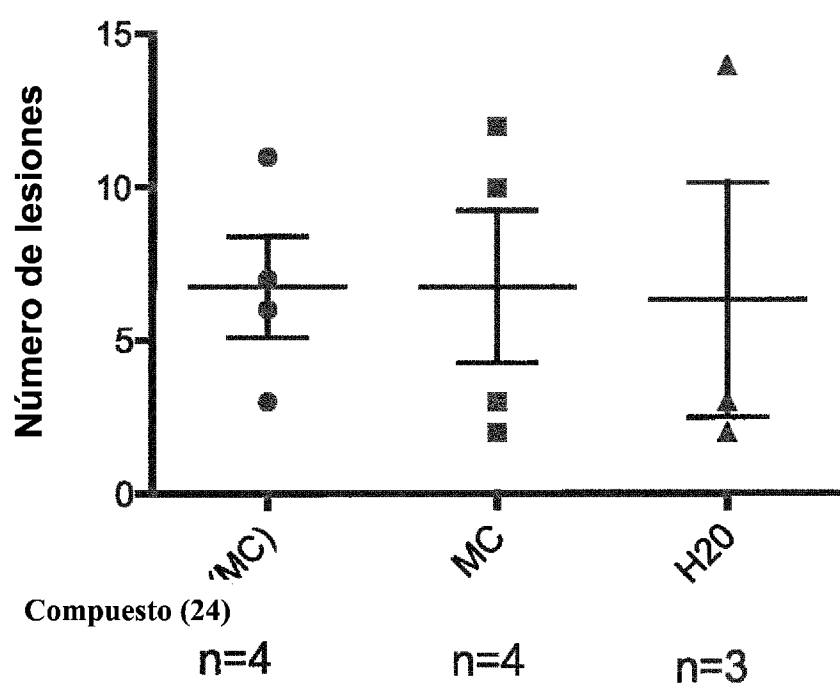


Figura 4

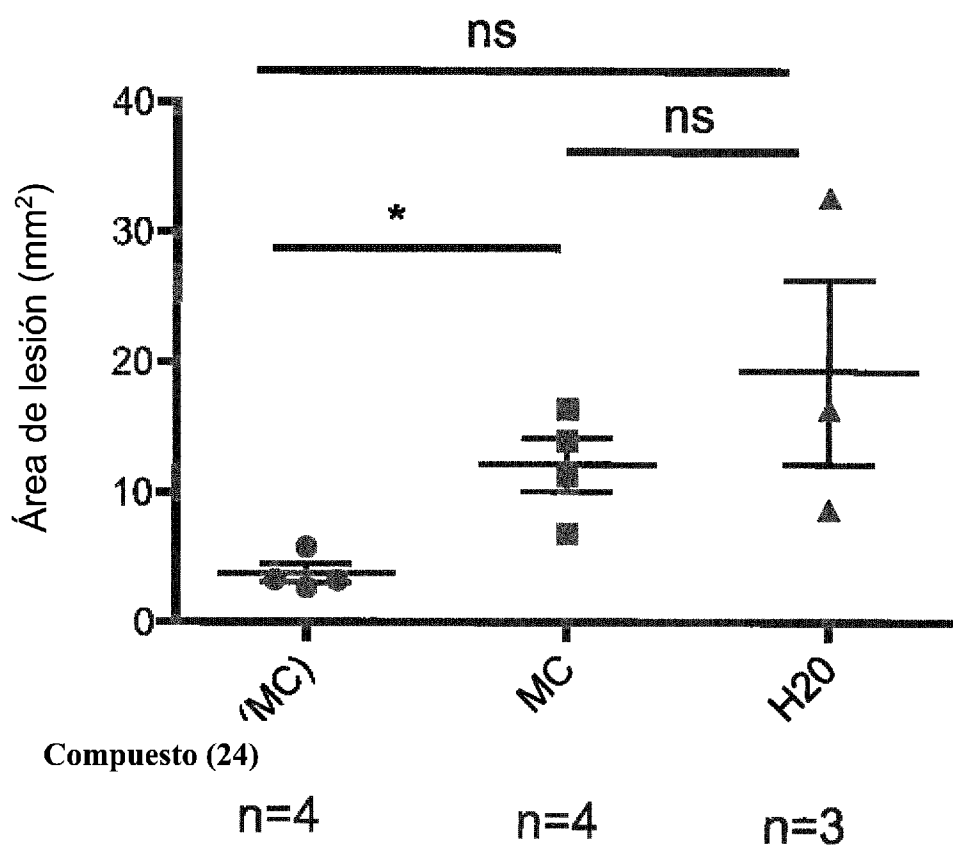


Figura 5

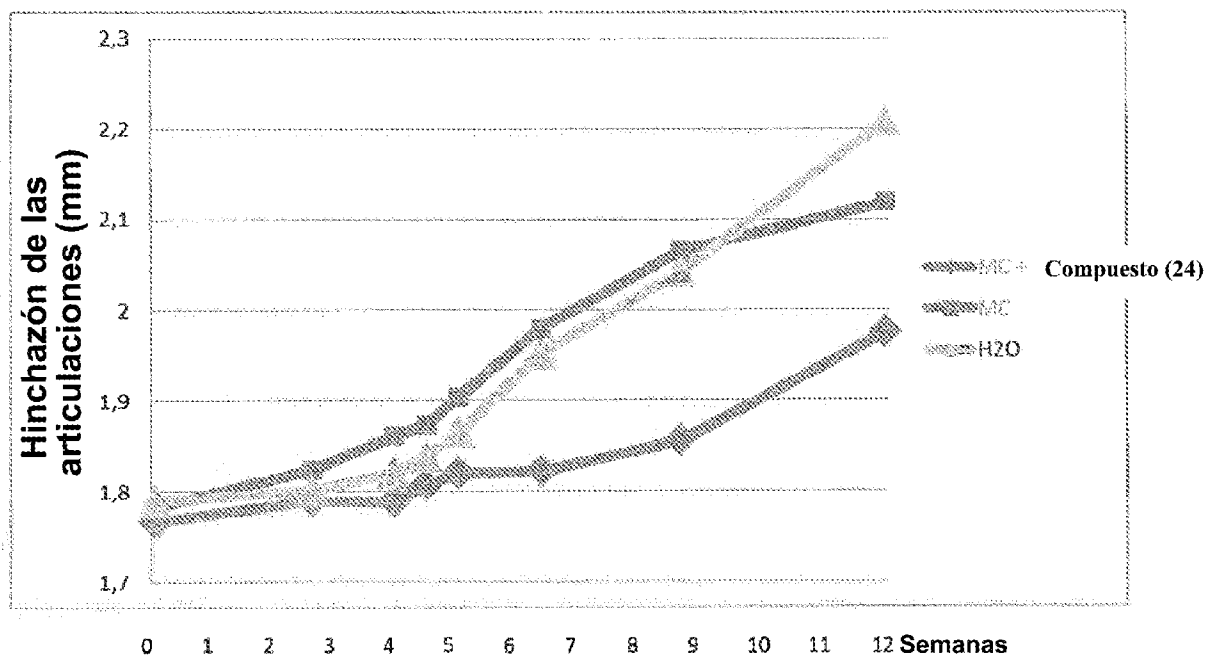


Figura 6