



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 159 484**

② Número de solicitud: 009902827

⑤ Int. Cl.⁷: C07H 15/18

A61K 31/70

A61P 25/16

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **22.12.1999**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **01.10.2001**

Fecha de concesión: **06.03.2002**

⑭ Fecha de anuncio de la concesión: **01.05.2002**

⑮ Fecha de publicación del folleto de patente:
01.05.2002

⑰ Titular/es: **Consejo Superior de
Investigaciones Científicas
C/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES
Universidad de Santiago de Compostela**

⑱ Inventor/es: **Fernández Lozano, Caridad;
Fernández-Mayoralas Álvarez, Alfonso;
Nieto López, Ofelia;
Fontela Gil, José Angel y
Rivas Torres, Emilia**

⑲ Agente: **No consta**

⑳ Título: **Derivados de glicosil-diacil dopamina y sus sales como agentes potenciales de reposición de dopamina en cerebro y su procedimiento de obtención.**

㉑ Resumen:

Derivados de glicosil-diacil dopamina y sus sales como agentes potenciales de reposición de dopamina en cerebro y su procedimiento de obtención.

La hipótesis de la invención se fundamenta en la capacidad de un residuo glucídico para actuar como un vector que transporte al neurotransmisor hacia el interior del tejido cerebral, en donde se liberaría gradualmente dopamina por hidrólisis de la unión glicido-dopamina. Los compuestos presentan la dopamina unida a una hexosa a través de un conector derivado de un ácido dicarboxílico. Las uniones tienen lugar mediante enlaces susceptibles de ser hidrolizados por enzimas hidrolasas presentes en tejido cerebral, tales como esterasas y proteasas. Poseen utilidad potencial como nuevos agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por bajos niveles de dopamina, como la enfermedad de Parkinson.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. C/Panamá, 1 - 28036 Madrid

ES 2 159 484 B1

DESCRIPCION

Derivados de glicosil-diacil dopamina y sus sales como agentes potenciales de reposición de dopamina en cerebro y su procedimiento de obtención.

5

Sector de la técnica

Producto farmacéutico. Enfermedades neurodegenerativas.

10

Estado de la técnica

Muchas enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por una marcada disminución de los niveles de determinados neurotransmisores en cerebro. La enfermedad de Parkinson es una manifestación del síndrome de deficiencia de dopamina en la sustancia negra, que inerva el estriado y otras áreas del cerebro asociadas con actividad motora. Un posible tratamiento basado en la administración de la propia dopamina no es factible, debido a la dificultad que encuentra esta molécula polar para atravesar la barrera hematoencefálica (BHE). La terapia de reposición de dopamina cerebral se viene llevando a cabo mediante la administración de su precursor, L-DOPA, en combinación con un inhibidor periférico de dopadescarboxilasa, para evitar su rápida transformación en dopamina a este nivel, y también de un inhibidor de monoaminoxidasa B, para mantener los niveles de dopamina cerebral alcanzados, inhibiendo su degradación. No obstante, esta terapia combinada no resulta muy efectiva dado que la L-DOPA que llega al cerebro no sobrepasa el 10 % de la L-DOPA administrada.

Por otra parte, es conocido que la glucosa y otras hexosas son rápidamente transportadas al interior del cerebro mediante transportadores de glucosa localizados en la membrana de las células endoteliales de la BHE. Con base en este mecanismo se puede abordar el estudio del transporte al cerebro de sustancias biológicamente activas, que no atraviesan la BHE, mediante su unión a glúcidos. Un trabajo reciente publicado en la revista *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 91, págs. 7114-7118 (1994) muestra que derivados glicosilados de péptidos análogos de encefalina promueven el transporte del péptido a través de la BHE y producen analgesia en ratones.

La patente americana 5,380,837, de fecha 10/01/95 describe la preparación de derivados α -glicosilados de catecolaminas y sus sales, y su uso. La patente se refiere a compuestos con un residuo de D-glucosa con enlace glicosídico α en posición C-3 ó C-4 de la catecolamina, y un procedimiento enzimático para su preparación. No se menciona actividad de los compuestos como suministradores de dopamina en cerebro.

Los derivados de glicosil-diacil dopamina de la presente invención tienen un residuo de D-glucosa unido al grupo amino de la dopamina mediante un fragmento derivado de un ácido dicarboxílico que actúa como conector.

40

Descripción de la invención

El objeto de la presente invención es el estudio de las propiedades como agentes de reposición de dopamina en cerebro de nuevos derivados glicosilados de este neurotransmisor y su método de obtención. La hipótesis de trabajo de la invención se fundamenta en la capacidad de un residuo glucídico para actuar como un vector que transporte al neurotransmisor hacia el interior del tejido cerebral, en donde se liberaría gradualmente dopamina por hidrólisis de la unión glúcido-dopamina.

Los compuestos de la presente invención presentan la dopamina unida a una hexosa a través de un conector derivado de un ácido dicarboxílico. Las uniones tienen lugar mediante enlaces susceptibles de ser hidrolizados por enzimas hidrolasas presentes en tejido cerebral tales como esterases, amidasas y proteasas.

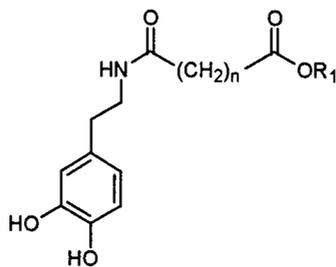
Los derivados de glicosil-diacil dopamina, tras su administración a ratas reserpinizadas, condujeron a un incremento de la actividad motora y, por tanto, poseen utilidad potencial como nuevos agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por bajos niveles de dopamina, como la enfermedad de Parkinson.

La presente invención se refiere a nuevos glicosil-diacil derivados de dopamina de fórmula general I, donde $R_1 = \beta$ -D-hexopiranos-1-ilo ó α, β -D-hexopiranos-6-ilo, y $n = 1-3$.

60

5

10



I

15

En los compuestos de fórmula I, la dopamina se enlaza por el grupo amino a un conector de tipo dicarboxílico, formando un enlace amido. Dicho conector, a su vez, esterifica un grupo hidroxilo en posición C-1 ó C-6 de una hexopiranososa. Los conectores derivan de ácidos dicarboxílicos lineales con un número de grupos metileno $n = 1-3$.

20

Como hexosas se seleccionan aquellas cuya propiedad de ser transportadas eficientemente al cerebro desde el plasma sanguíneo es conocida y se describen en el trabajo de W. H. Oldendorf en *Am. J Physiol.*, 221 (1971) 1629-1639. Así, pueden elegirse entre la D-glucosa, 2-desoxi-D-glucosa, 3-O-metil-D-glucosa, D-manosa y D-galactosa; preferentemente la D-glucosa y D-galactosa.

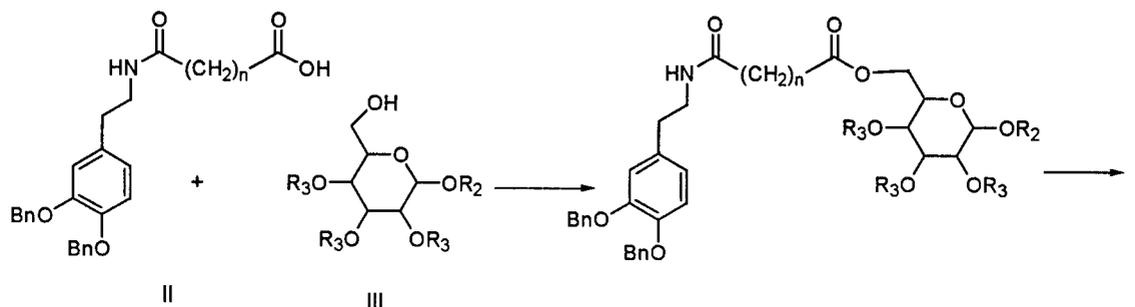
25

Los glicosil-diacil derivados de estructura I se obtienen por esterificación de los ácidos de fórmula II con el grupo hidroxilo en C-6 de una hexosa de fórmula general III que presenta el resto de funciones hidroxílicas protegidas por un grupo trimetilsililo o un grupo bencilo, y posterior desbencilación y, en su caso, ruptura de los trimetilsililos. La reacción de esterificación se lleva a cabo en presencia de un deshidratante tal como la dicitclohexilcarbodiimida, y es catalizada por una base como la *N,N*-dimetil-4-aminopiridina.

30

35

40

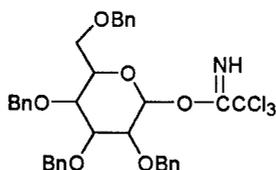


45

En caso de que la unión entre II y la hexosa se realice por la posición 1 de esta última, conocida como posición anomérica, el procedimiento se realizará empleando un tricloroacetimidato de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-hexopiranosilo de fórmula IV.

50

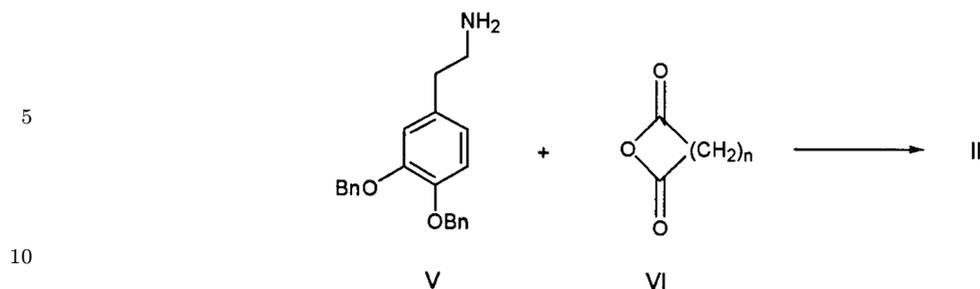
55



IV

60

Los ácidos de fórmula II pueden obtenerse por reacción de la 5,6-dibencildopamina (o la correspondiente sal de amina) V con un anhídrido de ácido dicarboxílico de fórmula general VI, donde $n = 1-3$, en un disolvente orgánico.



15 Aquellas etapas que conlleven la desprotección de grupos bencilo se realizan en presencia de hidrógeno y un catalizador, preferentemente paladio sobre carbono. La reacción de ruptura de grupos trimetilsililo se lleva a cabo por tratamiento con un ácido prótico, tal como el ácido trifluoroacético, en un disolvente orgánico inerte, generalmente a temperatura ambiente.

Como nuevos glicosil-diacil derivados de dopamina serán mencionados en detalle:

- 20 1 (fórmula general I con $R_1 = \alpha, \beta$ -D-glucopiranos-6-ilo $n=2$). 3,4-dihidroxifeniletilsuccinamato de α, β -D-glucopiranos-6-ilo.
- 2 (fórmula general I con $R_1 = \alpha, \beta$ -D-galactopiranos-6-ilo $n=2$). 3,4-dihidroxifeniletilsuccinamato de α, β -D-galactopiranos-6-ilo.
- 25 3 (fórmula general I con $R_1 = \beta$ -D-glucopiranos-1-ilo $n=2$). 3,4-dihidroxifeniletilsuccinamato de β -D-glucopiranos-1-ilo.

30 Los nuevos derivados glicosilados de dopamina muestran una buena estabilidad en plasma de rata (aprox. 3 horas). En presencia de enzimas hidrolíticas específicas de enlaces entre los residuos glucídicos y dopamina, se ha podido comprobar que éstas actúan hidrolizando esos puntos de unión. Además, se ha descubierto que su administración a ratones reserpinizados produce un incremento de la actividad motora (figura 1). Los ensayos biológicos llevados a cabo con los nuevos derivados glicosilados de dopamina a los que se refiere la presente invención, ponen de manifiesto su utilidad terapéutica potencial como agentes reguladores de los niveles de dopamina, en enfermedades caracterizadas por deficiencias de este neurotransmisor en cerebro.

40 Los siguientes ejemplos describen el procedimiento de síntesis y la actividad biológica de algunos de los productos preparados. Se debe entender, no obstante, que la invención no se limita a los reactivos y condiciones recogidas en los ejemplos.

Breve descripción de las figuras

45 Figura 1: Estudio de actividad motora: cm/h recorridos por los ratones reserpinizados tras la administración intraperitoneal de vehículo 0 (solución salina), compuesto 1 (10 mg/kg.) compuesto 2 (10 mg/kg.) y como referencia, anfetamina 3 (2'5 mg/kg.)

- 0 Vehículo.
- 1 Fórmula general II con $R_3 = \alpha, \beta$ -D-glucopiranos-6-ilo, $n=2$
- 50 2 Fórmula general II con $R_3 = \alpha, \beta$ -D-galactopiranos-6-ilo, $n=2$
- 3 Anfetamina.

Ejemplos

55 A. Síntesis de glicosildiácil derivados de Dopamina de fórmula general I: 1

($R_1 = \alpha, \beta$ -glucopiranos-6-ilo, $n=2$), 2 ($R_1 = \alpha, \beta$ -galactopiranos-6-ilo, $n=2$), 3 ($R_1 = \beta$ -glucopiranos-1-ilo, $n=2$).

60

A.1. Síntesis de compuestos precursores

- Síntesis del compuesto II ($n=2$). Ácido 3,4-dibenciloxifeniletilsuccinámico

5 Se disuelve hidrocloreuro de dopamina (5 g, 26,4 mmol) en una solución al 10% de trietilamina en metanol. Se adiciona el anhídrido de tert-butiloxicarbonilo (6.331 g, 29 mmol) y se agita vigorosamente durante 30 min, calentando entre 50°C y 60°C. Una vez que la reacción ha finalizado, se continua la agitación durante 30 min más a temperatura ambiente. Se elimina el disolvente y el residuo se trata con una disolución de HCl (pH=2.15, 7×10^{-3} M) a 0°C, durante 10 minutos. La mezcla se extrae inmediatamente con acetato de etilo y la fase orgánica se seca (MgSO_4) y se concentra. El residuo se purifica por columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo/metanol 4:1:0.5 \rightarrow 42:1:0.5) obteniéndose N-tertbutiloxicarbonil-3,4-dihidroxifeniletilamina (92 %, Rf= 0.36 hexano/acetato de etilo/ácido acético, 4:1:0.5, p.f 136-138°C).

15 La amina protegida (6.15 g, 24.2 mmol) se disuelve en N,N-dimetilformamida (40 ml) y se trata con bromuro de bencilo (7.20 ml, 60,53 mmol) en presencia de carbonato potásico (21.36 g, 217.8 mmol). La mezcla se calienta a 60°C bajo atmósfera de argón durante 24h. al cabo de las cuales se filtra sobre celita y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo se disuelve en acetato de etilo y se lava sucesivamente con HCl 1N y solución de NaCl saturada. La fase orgánica se seca (Na_2SO_4), se filtra y concentra. El crudo se pasa por una columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 7:1 \rightarrow 3:1) obteniéndose N-tertbutiloxicarbonil-3,4-dibenciloxifeniletilamina (85 %, Rf= 0.52 hexano/acetato de etilo/ácido acético 3:1:0.05, p.f 106-108°C).

25 El tratamiento del compuesto anterior (7.340 g, 16.95 mmol) con una solución de ácido trifluoroacético al 5% en diclorometano (190 ml), durante 5 h a temperatura ambiente, conduce a la desprotección de la amina. La mezcla de reacción se concentra a sequedad obteniéndose el trifluoroacetato de 3,4-dibenciloxifeniletilamonio (95 %, Rf=0.32 diclorometano/metanol 5:1). El lavado de la sal con solución saturada de NaHCO_3 conduce a la amina correspondiente que se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con solución saturada de NaCl, se seca (Na_2SO_4) y se concentra. El residuo se disuelve en una solución de HCl en etanol hasta pH ácido y se adiciona hexano hasta que precipita el cloruro de 3,4-dibenciloxifeniletilamonio, compuesto V, como un sólido blanco cristalino (78 %, Rf=0.34 diclorometano/metanol/ácido acético 7:1:0.1, p.f 86-90°C).

35 La sal de amonio anterior (1.0 g, 2.706 mmol) se disuelve en piridina (1.08 ml) y se adiciona anhídrido succínico, compuesto VI ($n=2$), (542 mg, 5.412 mmol). La mezcla de reacción se deja a temperatura ambiente durante 3 h con agitación, se concentra a sequedad y el residuo se pasa a través de una columna de gel de sílice (diclorometano/metanol 15:1 \rightarrow 10:1 \rightarrow 5:1) obteniéndose el compuesto H ($n=2$), ácido 3,4-dibenciloxifeniletilsuccinámico (94 %, Rf=0.40 diclorometano/metanol 10:1, p.f 160-163°C).

- Síntesis del compuesto III ($R_3 = -\text{SiMe}_3$, $R_2 = -\text{Bn}$, glucosa). Bencil 2,3,4-tri-O-trimetilsilil- β -D-glucopiranosido

45 Una mezcla de clorotrimetilsilano (1.410 ml, 11.1 mmol) y hexametildisilazano (HMDS) (0.78 ml, 3.70 mmol) se adiciona cuidadosamente a una solución de bencil β -D-glucopiranosido (500 mg, 1.85 mmol) en piridina (8 ml), a 0°C. La temperatura se deja subir lentamente hasta 20°C y la mezcla se agita durante toda la noche. El disolvente y el exceso de reactivo se eliminan a presión reducida. El sólido resultante se disuelve en pentano, se lava con agua, se seca (MgSO_4) y se concentra para obtener bencil 2,3,4,6-tetra-O-trimetilsilil- β -D-glucopiranosido, como un sirupo (74 %, Rf=0.8 hexano/acetato de etilo 8:1). A una solución de este compuesto (737 mg, 1.36 mmol) en acetona (3 ml), se adiciona metanol (4.10 ml) y ácido acético (0.15 ml), dejándose con agitación a 0°C durante 2h. Pasado este tiempo, la mezcla se trata con NaHCO_3 (sólido) (242 mg) y se concentra. El residuo se purifica por columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 9:1) obteniéndose el compuesto III ($R_3 = -\text{SiMe}_3$, $R_2 = -\text{Bn}$, glucosa) bencil 2,3,4-tri-O-trimetilsilil- β -D-glucopiranosido (75 %, Rf=0.64 hexano/acetato de etilo 3:1, p.f 53-55°C), $[\alpha]_D^{20} - 20^\circ$ (c 1, CHCl_3).

- Síntesis del compuesto III ($R_2 = R_3 = \text{SiMe}_3$, galactosa). 1,2,3,4-tetra-O-trimetilsilil- α -D-galactopiranososa

55 Una mezcla de clorotrimetilsilano (3.5 ml, 28 mmol) y hexametildisilazano (HMDS) (1.4 ml, 6.67 mmol) se adiciona a una solución de D-galactosa (500 mg, 2.8 mmol) en piridina (17.4 ml), a 0°C. Se deja subir la temperatura hasta 20°C y se agita durante toda la noche. El disolvente y el exceso de reactivo se eliminan a presión reducida. El sólido resultante se disuelve en pentano, se lava con agua, se seca (MgSO_4) y se concentra a sequedad obteniendo 1,2,3,4,6-penta-O-trimetilsilil- α -D-galactopiranososa, como

un sirupo (93 %).

El compuesto anterior se trata con metanol/ácido acético tal y como se describe para la síntesis del compuesto III ($R_6 = -\text{SiMe}_3$, $R_7 = -\text{Bn}$, glucosa), para dar lugar al compuesto buscado III ($R_2 = R_3 = -\text{SiMe}_3$, galactosa) 1,2,3,4-tetra-*O*-trimetilsilil- α -D-galactopiranososa (75 %, Rf 0.60 hexano/acetato de etilo, 3:1, p.f 54-55°C.), $[\alpha]_D^{20} + 20^\circ$ (*c* 1, CHCl_3).

• *Síntesis del compuesto IV. Tricloroacetimidato de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosilo*

A una solución de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-D-glucosa en diclorometano anhidro (3.6 ml), se adiciona sucesivamente hidruro sódico (2 mg, 0.083 mmol) y tricloroacetnitrilo (0.336 ml, 3.33 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente, bajo atmósfera de argon durante 1h. Pasado este tiempo, se adiciona más hidruro sódico (15 mg) y se deja evolucionar la reacción durante 1h. Se filtra sobre celita y el crudo se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante una columna rápida de gel de sílice (hexano/acetato de etilo/trietilamina 5:1:0.2) para obtener el compuesto IV como un sirupo (95 %).

A.2. *Síntesis del compuesto 1 (I, $R_1 = \alpha, \beta$ -D-glucopiranos-6-ilo, $n=2$). 3,4-dihidroxifeniletilsuccinamato de α, β -D-glucopiranos-6-ilo*

Una solución del ácido II ($n=2$) (53 mg, 0.122 mmol) y del compuesto III ($R_3 = \text{SiMe}_3$, $R_2 = \text{Bn}$, glucosa) (54 mg, 0.111 mmol) en diclorometano seco, se trata con diciclohexilcarbodiimida (DCC) (26.3 mg, 0.128 mmol) y N,N-dimetil-4-aminopiridina (DMAP) (1 mg) durante 3h a temperatura ambiente. Al cabo de este tiempo, la mezcla de reacción se filtra sobre celita, se diluye con diclorometano, se lava sucesivamente con una solución acuosa 5 % de ácido acético y agua, se seca (Na_2SO_4) y se concentra.

El sirupo resultante se trata con una solución de ácido trifluoroacético 2 % en nitrometano (5.24 ml) a 0°C durante 1h. Se añade NaHCO_3 (sólido) (178 mg), se filtra y se concentra. El residuo se purifica por columna de gel de sílice (diclorometano/metanol 50:1 \rightarrow 30:1) obteniendo el producto de condensación (69 %, p.f 46-49°C, Rf=0.52 diclorometano/metanol 9:1, $[\alpha]_D^{20} -24.4^\circ$ (*c* 1, CHCl_3)), que por hidrogenación catalítica (paladio sobre carbono) conduce al producto 1 (99 %, p.f 80-85°C, Rf 0.34 acetato de etilo/acético/agua, 4:1:1, $[\alpha]_D^{20} + 28.9^\circ$ (*c* 0.7, CH_3OH)).

A.3. *Síntesis del compuesto 2 (I, $R_1 = \alpha, \beta$ -D-galactopiranos-6-ilo, $n=2$). 3,4-dihidroxifeniletilsuccinamato de α, β -D-galactopiranos-6-ilo*

Una solución del ácido II ($n=2$) (30 mg, 0.070 mmol) y del compuesto III ($R_2 = R_3 = \text{SiMe}_3$, galactosa) (31 mg, 0.067 mmol) en diclorometano anhidro (3 ml) se trata con diciclohexilcarbodiimida (15 mg, 0.073 mmol) y N,N-dimetil-4-aminopiridina (DMAP) (1 mg). Tras 4h de reacción, la mezcla se filtra sobre celita y se concentra. El residuo resultante se trata con una solución de trifluoroacético al 5 % en nitrometano a 0°C, durante 5 h. Se añade NaHCO_3 (sólido) (126 mg), se filtra y se concentra. El residuo se purifica por columna (diclorometano/metanol 15:1) obteniéndose el producto de condensación (78 %, p.f 160-163°C, Rf 0.35 diclorometano/metanol 7:1, $[\alpha]_D^{20} + 26.6^\circ$ (*c* 0.8, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$, 1:1)) que por hidrogenación catalítica (paladio sobre carbono activado), conduce al compuesto 2 (99 %, p.f 97-100°C, Rf 0.30 acetato de etilo/acético/agua, 4:1:1, $[\alpha]_D^{20} + 25.8$ (*c* 0.4, CH_3OH)).

A.4. *Síntesis del compuesto 3 (I, $R_1 = \beta$ -D-glucopiranos-1-ilo, $n=2$). 3,4-dihidroxifeniletilsuccinamato de β -D-glucopiranos-1-ilo*

Una solución del compuesto IV (395 mg, 0.577 mmol) en diclorometano anhidro con un 5 % de N,N-dimetilformamida (13.1 ml), se trata con el ácido II ($n=2$) (227 mg, 0.524 mmol, concentración de ácido en solución 40 mM), a temperatura ambiente, en atmósfera inerte durante 5 días. La mezcla de reacción se diluye con diclorometano y se lava repetidas veces con una mezcla de agua/hielo. La fase orgánica se seca (Na_2SO_4) y se concentra. El residuo se purifica mediante columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 5:1 \rightarrow 4:1 \rightarrow 3:2) obteniéndose un producto (40 %, p.f 75-78°C, Rf 0.395 acetato de etilo/hexano 1:1, $[\alpha]_D^{20} + 10.4^\circ$ (*c* 1, CHCl_3)) que por hidrogenación catalítica (paladio sobre carbono) conduce a 3 (99 %, Rf 0.32, acetato de etilo/acético/agua 4:1:1, $[\alpha]_D^{20} -4^\circ$ (*c* 1, CH_3OH)).

B. *Estudios de actividad biológica*

B.1. *Estudios de estabilidad del compuesto 1 (I con $R_3 = \alpha, \beta$ -D-glucopiranos-6-ilo, $n=2$).*

Los estudios de estabilidad se efectuaron incubando el compuesto a una concentración 0.5 mM, en el medio correspondiente a $T=37^\circ\text{C}$. El seguimiento del comportamiento del glicoconjugado se efectuó

mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se utilizaron enzimas comerciales para el estudio de la hidrólisis de los distintos puntos de unión:

- Esterasa de hígado bovino, 60 unidades en tampón Na₃PO₄ 0.1M pH=7.18.
- α -Quimotripsina, 30 unidades en tampón Na₃PO₄ 0.1M, CaCl₂ 10 mM, pH=7.18.

También se efectuaron estudios de estabilidad con plasma de rata y extracto de cerebro de rata. En la tablas 1 se recoge los resultados obtenidos.

TABLA 1

Medio de incubación T=37°C	Estabilidad ($t_{1/2}$) Compuesto 1
Esterasa (60 u)	7 h.
α -quimotripsina (30 u)	43 h.
Plasma de rata	3 h.
Extracto cerebral soluble	21 h.

B.2. Estudios de motilidad

La actividad motora se monitorizó durante períodos de 1 o 3 horas con el sistema de vídeo digital Ethovision (v 1.90). Se utilizaron ratones reserpinizados como modelo experimental de la enfermedad de Parkinson. El síndrome se induce mediante la administración de reserpina (5 mg/Kg i.p., 18h antes del ensayo) que produce una fuerte reducción de las reservas de dopamina cerebral. A los distintos grupos de animales se les administró:

- a) Vehículo, a los animales control tomados como referencia.
- b) Anfetamina (2.5 mg/Kg), a un segundo grupo de animales, para poder establecer una relación comparativa del efecto producido por este potente liberador de Dopamina con el previsible efecto de los nuevos compuestos.
- c) Los glicosil derivados de dopamina (10 mg/Kg) que corresponden a las siguientes estructuras:
 - 1 (fórmula general I con R₁= α,β -D-glucopiranos-6-ilo, n=2).
 - 2 (fórmula general I con R₁= α,β -D-galactopiranos-6-ilo, n=2).

Inmediatamente después de la administración, los animales se depositaron en las cajas de experimentación (50x50 cm) y se estudio la evolución del comportamiento locomotor del animal. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 1.

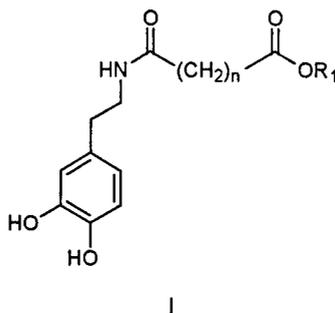
REIVINDICACIONES

1. Derivados de glicosil-diacil dopamina de fórmula general I.

5

10

15



donde $R_1 = \beta$ -D-hexopiranos-1-ilo ó α, β -D-hexopiranos-6-ilo, y $n = 1-3$.

20

2. Derivados de glicosil-diacil dopamina según reivindicación 1 **caracterizados** porque el R_1 de α, β -D-hexopiranosilo puede ser de glucosa, 2-desoxiglucosa, 3-O-metilglucosa, manosa ó galactosa.

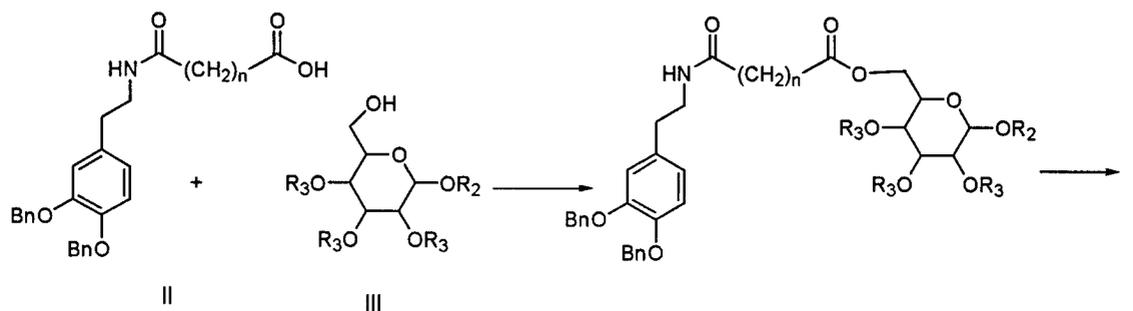
25

3. Procedimiento para la obtención de glicosil-diacil derivados de dopamina de fórmula I según las reivindicaciones 1 y 2 **caracterizado** porque: en una primera etapa se hace reaccionar un N-acil derivado de dopamina de fórmula II con un derivado de hexopiranososa parcialmente protegido de fórmula III, donde R_2 y R_3 son grupos bencilos ó trimetilsililos, en presencia de un deshidratante, o con un tricloroacetimido de perbencil- α -D-hexopiranosilo, siendo la hexosa una de entre las mencionadas en la reivindicación 2, y en una segunda etapa los productos se

30

35

40



desbencilan y, en su caso, se destrimetilsilan para obtener los productos de fórmula I.

45

4. Procedimiento según la reivindicación 3 **caracterizado** porque en la primera etapa se emplea dicitohexilcarbodiimida como deshidratante, y N,N-dimetil 4-aminopiridina como catalizador.

50

5. Procedimiento según la reivindicación 3 **caracterizado** porque en la segunda etapa los productos se desbencilan utilizando hidrógeno en presencia de catalizador de paladio sobre carbono.

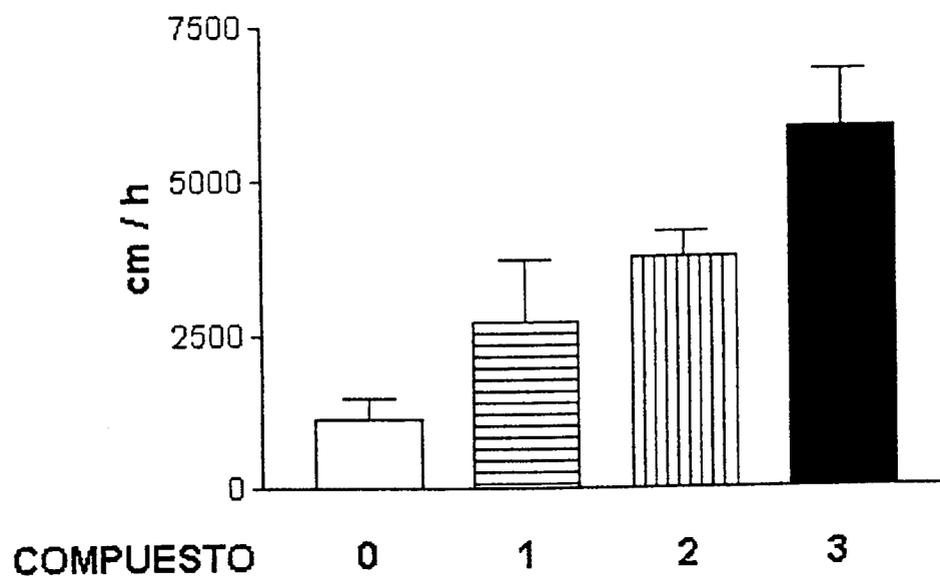
55

6. Procedimiento según la reivindicación 3 **caracterizado** porque en la segunda etapa los productos se destrimetilsilan por tratamiento con un ácido prótico, tal y como el ácido trifluoroacético, en un disolvente orgánico inerte.

60

7. Derivados de glicosil-diacil dopamina de fórmula general I, según las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizados** porque tras su administración a ratas reserpinizadas conducen a un incremento de la actividad motora y, por tanto, poseen utilidad potencial como agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades **caracterizadas** por bajos niveles de dopamina.

Figura 1





INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑮ Int. Cl.⁷: C07H 15/18, A61K 31/70, A61P 25/16

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	POLT, R. y col. Glycopeptide enkephalin analogues produce analgesia in mice: Evidence for penetration of the blood-brain barrier. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Julio 1994, Vol. 91, páginas 7114-7118.	1-7
A	HALMOS, T. y col. Synthesis of glucose-chlorambucil derivatives and their recognition by the human GLUT1 glucose transporter. European Journal of Pharmacology, 1996, Vol. 318, páginas 477-484.	1-7
A	URIEL, C. y col. Hexose Keto-C-glycoside Conjugates: Design, Synthesis, Cytotoxicity, and Evaluation of Their Affinity for the Glucose Transporter Glut-1. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1996, Vol. 4, N° 12, páginas 2081-2090.	1-7
A	EP 564099 A (KABUSHIKI KAISHA H.S.K.K.) 06.10.1993, todo el documento.	1-7

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe

29.08.2001

Examinador

E. Albarrán Gómez

Página

1/1